

**THESE**

pour le

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE BORDEAUX 2**

Mention : Sciences, Technologie, Santé

Option : Œnologie

Présentée et soutenue publiquement le 14 décembre 2012 par

**MICHEL Julien**

Né le 8 mars 1984 à Bordeaux, France

\*\*\*\*\*

**Classification et influences des polyphénols du bois  
de chêne sur la qualité sensorielle des vins  
(Application du procédé Oakscan<sup>®</sup>)**

\*\*\*\*\*

**Membres du Jury**

M. F. ZAMORA, Professeur, Universitat Rovira i Virgili ..... Rapporteur  
M.J. RICARDO DA SILVA, Professeur, Universidade de Lisbonne ..... Rapporteur  
M. B. CHARRIER, Professeur, Université de Pau ..... Examineur  
M. M. JOURDES, Maître de Conférences, Université Bordeaux Segalen ..... Examineur  
M. P.L. TEISSEDRE, Professeur, Université Bordeaux Segalen ..... Directeur de thèse



## Résumé

Lors de l'élevage des vins avec le bois de chêne, plusieurs molécules d'intérêts organoleptiques comme les ellagitannins (vescalagine, castalagine, roburines A, B, C, D, E et grandinine), sont extraites. Leurs concentrations dans le bois et le vin sont très variables et leurs cinétiques d'extraction au cours de l'élevage ainsi que leurs propriétés organoleptiques dans les vins sont mal connues. Dans le but de classifier chaque douelle pour fabriquer des barriques avec des indices en polyphénols totaux significativement différents, un système proche infrarouge (NIRS), Oakscan®, a été mis en place par la tonnellerie Radoux. Notre objectif était d'étudier l'influence de ce mode de classifications des bois au niveau de la composition moléculaire et organoleptique des vins.

Dans un premier temps, la classification NIRS des bois de chêne a été confirmée par quantification des concentrations en ellagitannins totaux et moléculaire par HPLC-UV-MS. Une forte variabilité des concentrations en ellagitannins des bois est observée entre  $5,95 \pm 0,30$  et  $32,91 \pm 0,98$  mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec. De plus, la classification NIRS des bois se corrèle avec les analyses chimiques ( $p < 0,02\%$ ). Cette nouvelle méthode permet donc de fabriquer des barriques avec un IP moyen différent (IP : 11, 12, 16, 21, 26, 30, 35, 36, 39, 40, 41, 50, 51, 53, 62, 67 et 70).

Dans un second temps, des vins de différentes origines et cépages sont élevés dans les barriques classifiées. La cinétique des teneurs en ellagitanins montre l'influence de la classification des bois de chêne ( $p < 5\%$ ). En effet, dès les premiers mois d'élevage, une augmentation en ellagitanins jusqu'à un maximum est obtenue. Plus les bois sont riches, plus le maximum de concentration en ellagitannins des vins est élevé et décalé dans le temps ( $2,30 \pm 0,05$  après 4 mois et  $11,56 \pm 0,31$  mg d'équivalent acide ellagique / L de vin rouge après 12 mois respectivement pour des barriques d'IP 21 et d'IP 70). Puis, une lente diminution des concentrations en ellagitannins est observée. Les influences du grain et de la chauffe des bois ont également été analysées.

La solubilisation dans les vins des composés aromatiques des bois de chêne classifiés par Oakscan® montre dans plusieurs cas que les teneurs en aldéhydes furaniques (furfural, alcool furfurylique et 5-méthylfurfural) et en syringol impliqués dans les perceptions du fumé/grillé sont corrélées avec la classification NIRS et également avec l'IP des bois. Ainsi, un vin élevé au contact de bois riches en polyphénols possède des concentrations en arômes fumé/grillé plus importantes. Néanmoins, l'intensité de la chauffe (qui permet leur synthèse par thermo dégradation des hémicelluloses et des lignines) a un rôle prépondérant sur les concentrations de ces arômes boisés.

Parallèlement, les propriétés organoleptiques des vins élevés avec du bois de chêne (barriques, staves) à 6, 12, 18 ou 24 mois et testées par un jury entraîné, montrent des différences significatives corrélées à l'IP des barriques. Les vins élevés pour les IP les plus importants sont significativement décrits comme plus boisés, fumés/grillés et épicé au nez. En bouche, l'amertume et l'astringence sont significativement plus importantes pour les vins élevés dans les barriques possédant les plus fortes concentrations en ellagitanins. A contrario, le fruité des vins, au nez et en bouche, est généralement noté comme moins important pour les vins élevés avec des barriques à IP le plus hauts.

L'influence de la classification des bois, en fonction de leurs grains et de leurs IP, sur la consommation en oxygène des vins rouges après entonnage a été suivie grâce à une méthode innovante et non invasive. Les résultats montrent que 96% de l'oxygène dans le vin à T0 est consommé huit jours après entonnage. Des différences significatives ( $p < 0,01\%$ ), entre les vitesses de consommation de l'oxygène et l'IP ou le grain des barriques, sont observées. La vitesse de consommation d'oxygène augmente avec corrélation de l'IP des barriques ou de la taille du grain.

Ces résultats permettent d'envisager l'utilisation de méthodes de sélection non empiriques et fiables des bois de chêne en fonction de leurs grains ou de leurs concentrations en ellagitanins ce qui permet de fabriquer des barriques classifiées à l'aide de nos résultats conférant, au vin, des propriétés organoleptiques maîtrisées.

**Mots clefs:** Ellagitanins, NIRS, vin, bois de chêne, astringence, amertume, composés aromatiques, oxygène

## **Abstract**

During the wine aging with oak wood, some compounds with interesting organoleptic properties such as ellagitannins (i.e., vescalagin, castalagin, roburins A, B, C, D, E and grandinin) are extracted. The ellagitannins concentrations in oak wood and wine are highly variable and their extractions kinetic during the aging as well as their organoleptic impacts on wines are poorly known and still unclear. In order to classify each stave according to their polyphenolics index (IP) before making the barrels, an infrared system (NIRS), Oakscan®, was developed by the tonnellerie Radoux. Our aim was to study the influence of this wood classification on the wines molecular composition and organoleptic properties.

In the first place, the NIRS oak staves classification has been confirmed by the determination of the total ellagitannins concentration as well as the specific levels of each ellagitannins molecule by HPLC-UV-MS. A high variability of the ellagitannins level in wood between  $5.95 \pm 0.30$  and  $32.91 \pm 0.98$  mg ellagic acid equivalent/g of dry wood was observed. Furthermore, the wood infrared classification is correlated with chemical analyzes ( $p < 0.02\%$ ) and allow the production of barrels with different IP (IP: 11, 12, 16, 21, 26, 30, 35, 36, 39, 40, 41, 50, 51, 53, 62, 67 et 70).

In a second place, some wines were aged in the classified barrels. The ellagitannins levels show the oak wood classification influences ( $p < 5\%$ ). Indeed, the first months of aging, the ellagitannins concentration increased until a maximum was obtained. Indeed, this maximum concentration in wine aged in barrel manufactured with the wood richer in ellagitannins was higher and latter ( $2.30 \pm 0.05$  after 4 months and  $11.56 \pm 0.31$  mg ellagic acid equivalent/L of wine after 12 months respectively for the IP 21 and IP 70 barrels). After this maximum, a slow decrease of the ellagitannins level was observed. The influences of grain and toasting were also analyzed.

The aromatics compounds solubilization of classified oak wood by Oakscan® show that the furanic aldehydes levels (furfural, alcohol furfurylique et 5-méthylfurfural) and the syringol involved in the smoked/toasted aromas were correlated with the NIRS classification and the wood IP. So, a wine aged in contact with wood richer in polyphenols compounds was described as more smoked/toasted. Nevertheless, the toasting intensity (which formed these compounds by thermo-degradation of hemicelluloses and lignins) plays a major role on their concentrations.

Moreover, organoleptic properties of the wines aged with oak wood (barrels, staves) at 6, 12, 18 or 24 months and tested by trained judges were significantly impacted by the IP barrels. In fact, wine with the highest ellagitannins level was significantly described with a higher woody, smoked/burned and spicy in nose. In mouth, the bitterness and the astringency were significantly higher in wine containing the highest ellagitannins level. Whereas, the wine fruity aroma, in nose and mouth, was generally described as lower in wine aged with the barrel with the IP higher.

The influences of wood classification, in relation with the grain and the IP, on the red wine oxygen consumption after being put into barrels were analyzed with a new non-invasive method. The results show that 96% of the oxygen in wine at T0 was consumed after 8 days. Significant differences ( $p < 0.01\%$ ) between the oxygen consumption speed and the barrel IP or the grain were observed. The oxygen consumption speed increases with correlation of barrel IP or the size of grain.

These results allow the utilization of a method not empirical and reliable method to select oak wood regarding their grain or their ellagitannins concentration in order to be able to produce oak barrels classified by means of our results to give organoleptic properties controlled to the wine.

**Keywords:** Ellagitannins, NIRS, wine, oak wood, astringency, bitterness, aromatics compounds, oxygen



*à ma famille ;*

*à mes amis ;*

*pour leur présence et le soutien de tous les instants qu'ils m'ont apportés,  
avec toute mon affection et ma reconnaissance*



## Remerciements

Ce travail fût réalisé au sein du laboratoire de Chimie Appliquée de la Faculté d'œnologie de Bordeaux, sous la direction de Monsieur le Professeur Pierre-Louis Teissedre. Je le remercie de m'avoir confié ce sujet, fait confiance alors que je n'avais pas suivi de formation en œnologie et de m'avoir soutenu tout au long de ce travail. Mon entrée grâce à lui m'a fait découvrir un domaine d'activité nouveau pour moi qui s'est révélé être des plus intéressants. C'est pourquoi je tiens à lui exprimer l'expression de ma sincère et profonde reconnaissance.

Je bénie également les membres du jury pour avoir accepté de prendre de leur précieux temps pour l'examen de ce travail et leur participation à la soutenance.

Ainsi, je remercie profondément Messieurs les Professeurs Jorge Ricardo-da-Silva, de l'Universidade de Lisboa (Portugal) et Fernando Marín Zamora de l'Universitat Rovira i Virgili de Tarragona (Espagne) pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail. Je suis très honoré de leur présence dans ce jury, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Je dédie toute ma reconnaissance au Maître de Conférences Michael Jourdes de l'Université Bordeaux Segalen de Bordeaux pour avoir accepté d'être examinateur de cette thèse. Mais également pour m'avoir apporté, en tant que collègue, un « raz de marrée » de conseils tant sur le plan chimique que méthodologique sans qui je me serais noyé sous le flot des informations et du travail à traiter.

Je tiens également à remercier Monsieur le Professeur Bertrand Charrier de l'Université de Pau, pour l'intérêt qu'il a manifesté pour ce travail en acceptant de présider ce jury.

Je remercie l'entreprise de tonnellerie RADOUX et son directeur général, Monsieur Christian Liagre, pour le soutien financier qu'ils ont apporté à ce travail.

Au cours de ces trois années, j'ai eu l'honneur d'être aidé par de nombreuses personnes grâce à leurs conseils, leurs soutiens logistique et moral. Je tiens donc à les remercier chaleureusement.

Je remercie Monsieur Nicolas Mourey, responsable recherche et développement de la tonnellerie Raboux ainsi que Monsieur Thomas Giordanengo pour leur aide précieuse dans la

mise en place des nombreux essais dans différents châteaux ainsi que de leur aide et participation lors des dégustations réalisées. Je tiens également à souligner leur gentillesse et leur patience dont ils ont su faire preuve.

J'adresse toute ma gratitude aux étudiants, stagiaires, ainsi qu'au personnel administratif et scientifique de la Faculté d'œnologie que j'ai côtoyée au cours de ces trois années de thèse.

Parmi eux, les membres du laboratoire avec qui j'ai « cohabité » au cours de ces études. Merci ; Bébé et Isa. C'est grâce à vous si aujourd'hui cette thèse est présentée. Votre aide et votre soutien moral dans les moments les plus difficiles m'ont permis de tenir. Je remercie également les autres membres du laboratoire qui ont réussi me supporter parmi lesquelles Kléo, Greg, Mamita, Natka, Nathalia ainsi que les personnes qui ont transité dans ce laboratoire. Et je souhaite bon courage à Alexandra, Leming et Lolo pour leur thèse.

J'adresse également toute ma gratitude et bien plus encore à Elodie, Julie, Mariette, Marine, Sophie, Adrien, Axel, Fety, Guillaume, Philippe-Emmanuel. Des collègues, des amis avec qui je l'espère le contact restera présent encore des années.

Je félicite mes sœurs et frères thésards, Cristèle, Marion, Yulie, Davidé avec qui j'ai pu partager les moments difficiles et joyeux de cette thèse.

Ce travail n'aurais pu être mené sans l'aide précieuse qui m'a été offerte par mes stagiaires ; Joao, Magalie et Mélanie. En espérant que j'ai su leur faire découvrir une partie du monde du travail de manière positive.

Je remercie également tout les dégustateurs qui ont participé à l'obtention des résultats de cette thèse.

A mes amis de longue date, Baol, Célia, Batoof, Tomi, Yas, Sam, Julba, Julien, Matthieu ou plus récent Emilie, Laura, Marie, Sovann, Cyril, Emile, Enrico, Maxoumou, Stéphane... Et bien d'autres encore, il y aurait tant de noms à apposer... Ils m'ont orienté et toujours soutenu dans mes démarches.

Enfin, je dédis ce travail à ma famille pour leur confiance inébranlable et pour m'avoir encouragé tout au long de mes années d'études.

# Valorisation des travaux de recherche

## I Publications :

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Influence of wood barrels classified by NIRS on the ellagitannins content and composition as well as the organoleptic properties of wine. *Food Chem.*, (**soumise 2012**)

Thomas Giordanengo, Julien Michel, Philippe Gauthier, Jean-Paul Charpentier, Michael Jourdes, Pierre-Louis Teissedre et Nicolas Mourey, Application du procédé OakScan® aux Bois pour l'Œnologie : Sélection et influence de la teneur en polyphénols du chêne sur le profil aromatique et structurant du vin. *Rev. Fr. Oenol.*, **2012**, pp 16-24

Julien Michel, Michael Jourdes, Maria Silva, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Oak ellagitannins concentrations influences organoleptics of red wine. *Practical Winery & Vineyard Journal*, **2012**, pp 13-25.

Maria A. Silva, Julien Michel, Michael Jourdes, Pierre-Louis Teissedre, Impact of closures on wine post-bottling development: a review. *Eur. Food Res. Technol.*, **2011**.

Michael Jourdes, Julien Michel, Cédric Saucier, Stéphane Quideau, Pierre-Louis Teissedre, Identification, amounts and kinetics of extraction of C-glucosidic ellagitannins during wine aging in oak barrels or in stainless steel tanks with oak chips. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, 401 (5), pp 1535-1543.

Julien Michel, Michael Jourdes, Maria Silva, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Impact of ellagitannins concentration in oak wood on their levels and organoleptic influence in red wine. *J. Agric. Food Chem.*, **2011**, 59 (10), pp 5677–5683.

## II Communications orales :

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Consequency of wood barrel NIRS classification on evolution and organoleptique properties of French red wine. *34<sup>th</sup> Organisation Internationale de la Vigne et du Vin*, **2012**, Izmir, Turquie.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, RADOUX Oakscan®: A new Tool to improve Phenolic Consistency in oak selection and Organoleptic Objectives. *Partners day Archem 360°*, **2012**, Tel aviv, Israël.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Aportes fenólicos de la madera e influencia sobre la calidad sensorial de los vinos, *Conférence RADOUX*, **2011**, Logroño, España.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Apports phénoliques du bois et influences sur la qualité sensorielle des vins. *Vinitech Sifel*, **2010**, Bordeaux, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Phenolic contributions of wood and influence on the organoleptic perception of red wine. *61<sup>th</sup> American Society for Enology and Viticulture*, **2010**, Seattle, USA.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Apports phénoliques du bois et influences sur la qualité sensorielle des vins. *Journée « Bois de chêne et vin »*, **2010**, ISVV, Bordeaux, France.

### **III Communications affichées :**

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Bénédicte Lorrain, Pierre-Louis Teissedre, Consequency of wood barrel NIRS classification on evolution and organoleptic properties of French red wine. *International Symposium, Macrowine 2010 on Macromolecules and Secondary Metabolites of Grapevine and wine*, **2012**, Bordeaux, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Kinetic of ellagitannin level in wine aged in NIRS classified barrels during 24 months and organoleptic property impacts. *American Society for Enology and Viticulture, ASEV*, **2012**, Portland, Oregon, USA.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Influences of ellagitannins level in wood on their extraction rates and on the red wine organoleptic properties. *Journée école doctorale*, **2012**, Arcachon, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Influences of ellagitannins level in wood on their extraction rates and on the red wine organoleptic properties. *American Society for Enology and Viticulture, ASEV*, **2011**, Monterey, Californie, USA.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Phenolic contributions of wood and influence on the organoleptic perception of red wine. *Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, OIV*, **2011**, Porto, Portugal.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Ellagitannins contributions of wood and influence on the organoleptic perception of red wine. *Oeno 2011*, **2011**, Bordeaux, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Oak wood influence on the organoleptique perception of red wine. *Journée école doctorale*, **2011**, Arcachon, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Phenolic contributions of wood and influence on the organoleptic perception of red wine. *Wine Active Compounds, WAC, 2011*, Beaune, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Bénédicte Lorrain, Pierre-Louis Teissedre, Oak wood influence on the organoleptic perception of red wine. *Third International Symposium, Macrowine 2010 on Macromolecules and Secondary Metabolites of Grapevine and wine, 2010*, Turin, Italie.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Phenolic contributions of wood and influence on the organoleptic perception of red wine. *33<sup>th</sup> Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, 2010*, Tbilissi, Géorgie.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Phenolic contributions of wood and influence on the organoleptic perception of red wine. *XXVth International Conference on Polyphenols, 2010*, Montpellier, France.

Julien Michel, Michael Jourdes, Thomas Giordanengo, Nicolas Mourey, Pierre-Louis Teissedre, Oak wood influence on the organoleptic perception of red wine. *7<sup>th</sup> Tannin conference, 2010*, Berlin, Allemagne.





# Sommaire

<b>Chapitre 1 : Etude bibliographique.....</b>	<b>1</b>
<b>Introduction générale.....</b>	<b>2</b>
<b>1. Le bois de chêne en œnologie.....</b>	<b>5</b>
1.1. Historique .....	5
1.2. Le bois en tonnellerie .....	6
1.2.1. Le chêne .....	6
1.2.2. Fabrication de la barrique .....	10
1.2.2.1. Sélection des bois et des grumes .....	10
1.2.2.2. Fendage ou sciage des bois.....	12
1.2.2.3. Séchage du bois .....	13
1.2.2.4. Le montage de la coque.....	15
1.2.2.5. Cintrage et chauffe aromatique .....	15
1.2.2.6. Les fonds .....	17
1.2.2.7. Les cercles .....	17
1.2.2.8. Les finitions et contrôles .....	17
1.2.3. Méthode de sélection empirique .....	18
1.2.4. Nouvelle méthode de sélection .....	19
1.3. Composition chimique du bois de chêne .....	20
1.3.1. Composition macromoléculaire .....	20
1.3.2. Composition en extractible .....	22
1.3.2.1. Composés non tanniques .....	22
1.3.2.2. Composés tanniques .....	25
1.4. Biosynthèse et localisation des ellagitanins .....	27
1.5. Sources de variabilité des tanins hydrolysables.....	29
1.6. Evolution des ellagitanins au cours de l'élevage .....	33
1.6.1. Addition avec les composés flavonoïdes .....	33
1.6.2. Réactivité avec l'oxygène .....	34
1.6.3. Dégradation par hydrolyse .....	35

<b>2. Les polyphénols du raisin et du vin .....</b>	<b>36</b>
2.1. Les composés non flavonoïdes .....	39
2.2. Les composés flavonoïdes .....	40
2.2.1. Les tanins condensés.....	41
2.2.2. Les anthocyanes .....	43
2.2.3. Biosynthèse .....	46
2.2.4. Evolution des composés flavonoïdes au cours du vieillissement du vin .....	47
2.2.4.1. Dégradation des anthocyanes .....	47
2.2.4.2. La copigmentation.....	48
2.2.4.3. Polymérisation interflavonoïdes directe .....	49
2.2.4.4. Polymérisation interflavonoïdes indirecte .....	51
<b>3. Propriétés sensorielles des tanins.....</b>	<b>53</b>
3.1. Le goût.....	53
3.2. L'amertume .....	56
3.3. L'astringence.....	56
3.4. Amertume et astringence des tanins condensés .....	57
3.5. Amertume et astringence des tanins hydrolysables .....	58
<b>4. Le proche infrarouge .....</b>	<b>60</b>
4.1. Introduction .....	60
4.2. Principe de fonctionnement .....	62
4.3. Utilisation du proche infrarouge en industries agroalimentaires et pharmaceutiques.....	66
4.4. Utilisation sur le bois destiné à l'œnologie ; Oakscan®.....	69
4.4.1. Fonctionnement de l'appareil .....	69
4.4.2. Etalonnage.....	70
<b>5. Conclusion générale .....</b>	<b>72</b>

## **Chapitre 2 : Matériels et méthodes.....73**

<b>1. Description du matériel .....</b>	<b>74</b>
1.1. Extracteur solide/liquide .....	74
1.2. Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	74
1.3. Spectrophotométrie UV-visible et proche infrarouge.....	75
1.4. Réactif .....	75
1.5. Vins utilisés .....	76
<b>2. Analyses des bois .....</b>	<b>76</b>
2.1. Sélection des échantillons .....	76
2.2. Broyage .....	78
2.3. Extraction solide/liquide .....	78
2.4. Dosage des ellagitanins totaux par hydrolyse acide .....	80
2.4.1. Hydrolyse acide .....	80
2.4.2. Analyse UPLC-UV-MS .....	81
2.5. Dosage des ellagitanins moléculaires .....	82
<b>3. Analyses des vins .....</b>	<b>83</b>
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	83
3.2. Dosage des tanins totaux.....	84
3.3. Dosage des flavanols monomères et oligomères .....	84
3.4. Dosage des anthocyanes totales .....	85
3.5. Dosage des anthocyanes libres.....	86
3.6. Dosage des pigments polymérisés .....	87
3.7. Dosage des indices chromatiques .....	87
3.8. Dosage d'autres paramètres des vins par infrarouge .....	88
3.9. Dosage des composés aromatiques du bois .....	89
3.10. Dosage des ellagitanins totaux par hydrolyse acide .....	89
3.10.1. Hydrolyse acide .....	89
3.10.2. Analyse UPLC-UV-MS .....	90
3.11. Dosage des ellagitanins moléculaires .....	91

3.11.1. Extraction sur phase solide (SPE).....	91
3.11.2. Analyse HPLC-MS .....	91
3.12. Analyses sensorielles .....	92
3.12.1. Entraînement des juges .....	93
3.12.2. Conditions des dégustations.....	94
3.13. Tests statistiques.....	96
<b>4. Suivi cinétique de l’oxygène dissous dans un vin rouge .....</b>	<b>96</b>

**Chapitre 3 : Etude de la cinétique des ellagitanins du bois de chêne (stave) sur le vin rouge lors d’un élevage et impacts organoleptiques .....99**

<b>1. Etude sur un vin d’assemblage Cabernet-sauvignon (CS)/Merlot du millésime 2008.....</b>	<b>100</b>
1.1. Caractéristiques du vin.....	100
1.2. Mise en place de l’essai .....	101
1.3. Analyses des ellagitanins dans le bois de chêne utilisé .....	102
1.4. Analyses des ellagitanins dans le vin.....	105
1.5. Analyses sensorielles .....	108
<b>2. Etude sur deux vins d’assemblage Cabernet sauvignon/Merlot du millésime 2010.....</b>	<b>110</b>
2.1. Caractéristiques du vin.....	110
2.2. Mise en place de l’essai .....	111
2.3. Analyses des ellagitanins dans les vins.....	112
2.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin .....	113
2.5. Analyses sensorielles .....	114
<b>3. Conclusion .....</b>	<b>116</b>

# **Chapitre 4 : Etude de la cinétique d'extraction et des impacts organoleptiques des ellagitanins du bois de chêne sur le vin lors d'un élevage en barriques neuves.... 119**

<b>1. Etude sur un vin de Cabernet sauvignon (CS).....</b>	<b>120</b>
1.1. Caractéristiques du vin.....	120
1.2. Mise en place de l'essai .....	121
1.3. Analyses des ellagitanins dans les bois de chêne utilisés .....	122
1.3.1. Dosage des ellagitanins par hydrolyse acide .....	122
1.3.2. Dosage des ellagitanins moléculaires .....	123
1.4. Analyses des ellagitanins dans le vin.....	124
1.4.1. Dosage des ellagitanins par hydrolyse acide .....	125
1.4.2. Dosage des ellagitanins moléculaires .....	126
1.5. Analyses sensorielles .....	128
1.6. Conclusion.....	129
<b>2. Etude sur un assemblage CS/Merlot .....</b>	<b>130</b>
2.1. Caractéristiques du vin.....	130
2.2. Mise en place de l'essai .....	131
2.3. Analyse des ellagitanins des bois de chêne utilisés .....	132
2.3.1. Dosage des ellagitanins par hydrolyse acide .....	132
2.3.2. Dosage des ellagitanins moléculaires .....	133
2.4. Analyse des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide.....	134
2.5. Analyses sensorielles .....	135
2.6. Conclusion.....	136
<b>3. Etude sur un vin de Merlot.....</b>	<b>137</b>
3.1. Caractéristiques du vin.....	137
3.2. Mise en place de l'essai .....	138
3.3. Analyse des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide.....	139
3.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin .....	141
3.5. Analyses sensorielles .....	142

3.6. Conclusion.....	143
<b>4. Etude sur un vin de Sauvignon .....</b>	<b>144</b>
4.1. Caractéristiques du vin.....	144
4.2. Mise en place de l'essai .....	145
4.3. Analyse des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide.....	146
4.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin .....	147
4.5. Analyses sensorielles .....	147
4.6. Conclusion.....	149
<b>5. Conclusion générale .....</b>	<b>149</b>
 <b>Chapitre 5 : Impacts des ellagitanins et du grain du bois de chêne sur la cinétique d'extraction et les propriétés organoleptiques du vin lors d'un élevage en barriques neuves .....</b>	
	<b>153</b>
<b>1. Etude sur un vin de Merlot.....</b>	<b>154</b>
1.1. Caractéristiques du vin.....	154
1.2. Mise en place de l'essai .....	154
1.3. Analyses des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide .....	155
1.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin .....	156
1.5. Analyses sensorielles .....	158
1.6. Conclusion.....	159
<b>2. Etude sur un assemblage CS/Merlot/Syrah.....</b>	<b>160</b>
2.1. Caractéristiques du vin.....	160
2.2. Mise en place de l'essai .....	161
2.3. Analyses des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide .....	162
2.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin .....	163
2.5. Analyses sensorielles .....	164
2.6. Conclusion.....	167

<b>3. Conclusion générale .....</b>	<b>168</b>
-------------------------------------	------------

<b>Chapitre 6 : Cinétique d'extraction des ellagitanins et impacts organoleptiques du bois de chêne lors d'un élevage en barriques neuves pour des vins à concentrations phénoliques (IPT) différentes.....</b>	<b>171</b>
---	------------

<b>1. Etude sur un vin d'assemblage CS/Merlot/Petit verdot.....</b>	<b>172</b>
---	------------

1.1. Caractéristiques du vin.....	172
1.2. Mise en place de l'essai .....	173
1.3. Analyses des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide .....	173
1.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin .....	175
1.5. Analyses sensorielles .....	175
1.6. Conclusion.....	177

<b>Chapitre 7 : Suivi cinétique des concentrations en oxygène d'un vin rouge lors d'un élevage en barriques neuves.....</b>	<b>179</b>
---	------------

<b>1. Etude sur un vin d'assemblage CS/Cabernet franc (CF).....</b>	<b>180</b>
---	------------

1.1. Caractéristiques du vin.....	180
1.2. Mise en place de l'essai .....	181
1.3. Analyses de la consommation d'oxygène par le vin.....	182
1.3.1. Consommation en oxygène en fonction de l'IP de la barrique.....	184
1.3.2. Consommation en oxygène en fonction du grain de la barrique .....	185
1.4. Conclusion.....	186

<b>Conclusions générales et perspectives .....</b>	<b>187</b>
--	------------

<b>Référence bibliographique.....</b>	<b>197</b>
---------------------------------------	------------





## Liste des Figures

- Figure 1 : **A** : Aire de répartition du genre *Quercus*, **B** : Aire de genre *Quercus robur* (gauche) et *Quercus petraea* (droite)
- Figure 2 : Schéma d'une section d'un tronc d'arbre
- Figure 3 : Travail de sciage et de fendage de la grume (x = longueur de la future douelle après écourtage) (Vivas, N., 2002)
- Figure 4 : Forme de la douelle après travaux de sciage (Vivas, N., 2002)
- Figure 5 : Structure possible de la lignine et de l'hémicellulose
- Figure 6 : Travaux préparatoires en bout de douelle à la pose des fonds (Vivas, N., 2002)
- Figure 7 : Exemple de différents grains
- Figure 8 : Schéma des cernes de l'arbre (coupe transversale)
- Figure 9 : **A** : Motif de cellobiose. **B** : Schéma de deux macromolécules de cellulose adjacents
- Figure 10 : Exemple de motif d'hémicellulose
- Figure 11 : Structure des unités de la lignine et exemple de motif de sa structure
- Figure 12 : Structures des principaux aldéhydes phénols
- Figure 13 : Structure des principaux acides phénols et coumarines
- Figure 14 : Structure de terpènes et de lipides C18:1 et C18:2
- Figure 15 : **A** : Structure des 8 ellagitanins, **B** : Structure d'un gallotanin
- Figure 16 : Voie de synthèse des précurseurs des gallotanins et des ellagitanins
- Figure 17 : Synthèse de la vescalagine et de la castalagine à partir de tellimagrandines (\* ; composé non isolé à ce jour)
- Figure 18 : Concentration en ellagitanins totaux de *Quercus robur* et *petraea* (Prida *et al.*, 2006)
- Figure 19 : Variabilité de la teneur en polyphénols des chênes en fonction de leur origine géographique
- Figure 20 : Concentration en polyphénols du chêne en fonction de son grain
- Figure 21 : Concentration en ellagitanins en fonction de l'âge du bois dans un tronc de bois de chêne (Masson, G., 1996 [1])
- Figure 22 : Structures de tanins complexes
- Figure 23 : Réaction entre la malvidine et la vescalagine et illustration des conséquences sur la couleur (Saucier, C., 2006)
- Figure 24 : Structures de la vescalagine et de la castalagine après oxydation
- Figure 25 : Hydrolyse de la vescalagine et de la castalagine
- Figure 26 : Classification des polyphénols en fonction de leur squelette carboné
- Figure 27 : Classification selon le caractère flavonoïde ou non des polyphénols du vin

Figure 28 : Teneur en mg/L des principaux composés phénoliques du vin (Cabanis J. C., 1998)

Figure 29 : Les acides phénols

Figure 30 : Principaux stilbènes du raisin

Figure 31 : Squelette général des flavonoïdes

Figure 32 : Monomères de tanins

Figure 33 : Structure de polymères d'unités flavan-3-ols

Figure 34 : Structure des 15 anthocyanes de la baie et du vin

Figure 35 : Transformation de la Malvidine-3-O-glucoside (Brouillard, 1978)

Figure 36 : Structure des anthocyanes en fonction du pH

Figure 37 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes

Figure 38 : Exemple de mécanisme de dégradation des anthocyanes

Figure 39 : Polymérisation ordonnée des flavanols (Vidal et al., 2002)

Figure 40 : Condensation entre une unité flavan-3-ol et une anthocyane

Figure 41 : Polymérisation désordonnée des flavanols

Figure 42 : Condensation de catéchine par l'intermédiaire d'éthanal

Figure 43 : Produit de condensation de catéchine par l'intermédiaire de l'acide glyoxylique

Figure 44 : Schéma des papilles de la langue humaine (Doty, 2012 [2])

Figure 45 : Molécule d'acroléine

Figure 46 : Schéma d'une onde électromagnétique

Figure 47 : Spectre électromagnétique (Bertrand, D. et Dufour, E., 2000)

Figure 48 : Types de vibrations possibles des liaisons d'une molécule

Figure 49 : Spectre proche infrarouge de l'eau

Figure 50 : spectre proche infrarouge du lait (**A**) et d'un produit fromager (**B**)

Figure 51 : Schéma de la réflexion diffuse

Figure 52 : Broyage d'écourtures de chêne

Figure 53 : Cinétique d'extraction des ellagitanins en fonction de la granulométrie des poudres de bois

Figure 54 : Chromatogramme HPLC-UV d'un extrait d'échantillon de bois de chêne

Figure 55 : Exemple de déroulement d'une séance de dégustation

Figure 56 : Exemple de feuille de dégustation utilisée

Figure 57 : Sonde PreSens Fibox PSt 3

Figure 58 : Mesure de l'oxygène

Figure 59 : Barriques expérimentales pour la mesure de l'oxygène dans le vin

Figure 60 : Schéma du plan d'essai sur le vin CS/Merlot (50/50 (vol/vol)) (millésime 2008)

Figure 61 : **A** : Tableau de la composition en ellagitanins des bois utilisés en %, **B** : Concentrations et compositions en ellagitanins des bois de chêne utilisés corrélé aux IP déterminés par Oakscan®

Figure 62 : Concentrations en ellagitanins dans le vin rouge issus de l'assemblage CS/Merlot (50/50)

Figure 63 : Concentrations des 4 principaux ellagitanins dans le vin (CS/Merlot) après 4 mois d'élevage

Figure 64 : Composition des ellagitanins dans le vin et le bois

Figure 65 : Impacts organoleptiques sur le vin de la classification des bois après 4 mois d'élevage

Figure 66 : Schéma du plan d'essai sur le vin CS/Merlot (50/50 (vol/vol)) (millésime 2010)

Figure 67 : Concentrations en ellagitanins dans les deux vins issus de l'assemblage CS/Merlot (50/50)

Figure 68 : Impacts organoleptiques de la classification des bois après 5,5 mois au contact avec les vins d'IPT 52,2 (**A**) et 66,1 (**B**)

Figure 69 : Schéma du plan d'essai sur le vin 100% CS

Figure 70 : Concentrations en ellagitanins totaux des bois déterminées par hydrolyse acide puis corrélées aux IP des classes déterminés par NIRS

Figure 71 : Concentrations en ellagitanins moléculaire des bois des barriques corrélées aux IP des classes déterminés par NIRS

Figure 72 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% CS élevé dans des barriques classifiées par NIRS au cours d'un élevage de 24 mois

Figure 73 : Cinétique des ellagitanins moléculaires dans un vin rouge 100% CS au cours d'un élevage en barrique

Figure 74 : Impacts organoleptiques sur le vin rouge 100% CS élevé dans des fûts classés en fonction de leur IP **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage, **C** : après 18 mois d'élevage, **D** : après 24 mois d'élevage

Figure 75 : Schéma du plan d'essai sur l'assemblage CS/Merlot (70/30)

Figure 76 : Corrélation entre les concentrations en ellagitanins des bois analysés par hydrolyse acide et l'IP des classes déterminé par NIRS

Figure 77 : Corrélation entre la composition en ellagitanins des bois utilisés et les classes d'IP

Figure 78 : Concentrations en ellagitanins de l'assemblage CS/Merlot (70/30) à 6, 12 et 15 mois d'élevage

Figure 79 : Impacts organoleptiques sur l'assemblage CS/Merlot élevé dans des fûts classés grâce à Oakscan® **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage, **C** : après 15 mois d'élevage

Figure 80 : Schéma du plan d'essai sur le vin 100% Merlot

Figure 81 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% Merlot à 6, 12 et 18 mois d'élevage

Figure 82 : Impacts organoleptiques de l'IP des fûts sur le vin 100% Merlot élevé dans des fûts classés grâce à Oakscan® : **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 18 mois d'élevage

Figure 83 : Schéma du plan d'essai sur le vin 100% Sauvignon Blanc

Figure 84 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% sauvignon blanc à 6 mois d'élevage

Figure 85 : Impacts organoleptiques de l'IP des fûts sur le vin 100% sauvignon blanc élevé au contact de bois classifiés par NIRS après 6 mois d'élevage

Figure 86 : Schéma du plan d'essai IP/grain sur le vin 100% Merlot

Figure 87 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% Merlot à 6 et 12 mois d'élevage

Figure 88 : Impacts organoleptiques des bois classés en fonction du grain (GF et GXF) et de leur IP (IP16 et IP 41), **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage

Figure 89 : Schéma du plan d'essai sur le vin d'assemblage CS/Merlot/Syrah

Figure 90 : Concentrations en ellagitanins du vin issu de l'assemblage CS/Merlot/Syrah après 6 et 12 mois d'élevage

Figure 91 : Impacts organoleptiques sur l'assemblage CS/Merlot/Syrah élevé dans des fûts classés en fonction de leur IP déterminé par Oakscan® : **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage

Figure 92 : Impacts organoleptiques sur l'assemblage CS/Merlot/Syrah élevé dans des fûts classés en fonction de leur grain : **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage

Figure 93 : Schéma du plan d'essai IPT/IP sur l'assemblage Merlot/CS/Petit verdot (50/45/5)

Figure 94 : Concentrations en ellagitanins des vins issus de l'assemblage Merlot/CS/Petit verdot après 6 mois d'élevage

Figure 95 : Impacts organoleptiques des bois classés en fonction de leur IP (IP 11 et IP 62) sur les deux vins d'IPT différents (IPT 77 et IPT 84)

Figure 96 : Barriques expérimentales pour la mesure de l'oxygène dissous du vin CS/CF (93/7 (vol/vol))

Figure 97 : Schéma du plan d'essai pour les mesures d'oxygène sur le vin d'assemblage CS/CF (93/7)

Figure 98 : Evolution globale des concentrations en oxygène du vin CS/CF (93/7) pour les différentes modalités de barrique et de la température du vin

Figure 99 : Zoom entre 3,5 et 10 jours après entonnage sur les concentrations en oxygène du vin CS/CF (93/7) dans les barriques d'IP différents

Figure 100 : Zoom entre 3,5 et 10 jours après entonnage sur les concentrations en oxygène du vin CS/CF (93/7 (vol/vol)) dans les barriques de grains différents

## **Liste des Tableaux**

Tableau 1 : Teneurs en polyphénols de différents légumes et fruits

Tableau 2 : Liste des vins utilisés et principales caractéristiques du type d'élevage et de la cinétique des prélèvements

Tableau 3 : Liste des échantillons de bois analysés

Tableau 4 : Répétabilité et reproductibilité de la méthode d'extraction

Tableau 5 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage de l'acide ellagique d'un extrait de bois

Tableau 6 : Limites de détection et de quantification de l'acide ellagique, répétabilité et reproductibilité de la méthode UPLC-UV

Tableau 7 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage des 8 ellagitanins d'un extrait de bois

Tableau 8 : Limite de détection et de quantification de la vescalagine sur l'HPLC-UV Hewlett Packard

Tableau 9 : Limites de détection et de quantification des tanins au fluorimètre

Tableau 10 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage des tanins du vin

Tableau 11 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage des anthocyanes du vin

Tableau 12 : Limite de détection et de quantification des anthocyanes glycosylées à 520 nm

Tableau 13 : Répétabilité et reproductibilité de l'appareil proche infrarouge Winescan

Tableau 14 : Composés aromatiques du bois dosés dans les vins et leurs seuils de perception

Tableau 15 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage de l'acide ellagique d'un vin hydrolysé

Tableau 16 : Répétabilité et reproductibilité de l'analyse de l'acide ellagique dans les vins hydrolysés et limites de détections et de quantifications de la méthode UPLC-UV-MS

Tableau 17 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage des ellagitanins d'un vin

Tableau 18 : Limites de détection et de quantification de la vescalagine, répétabilité et reproductibilité de la méthode HPLC-MS

Tableau 19 : Concentration en sulfate de quinine et en sulfate d'aluminium des solutions dégustées

Tableau 20 : Caractéristiques du vin issu de l'assemblage CS/Merlot (50/50)

Tableau 21 : Concentrations en ellagitanins des bois de chêne utilisés au contact avec le vin CS/Merlot

Tableau 22 : Caractéristiques des vins issus de l'assemblage (CS / Merlot (50 / 50))

Tableau 23 : Concentrations en composés aromatiques d'origine du bois de chêne dans les vins issus des assemblages CS/Merlot (50/50) en fonctions de l'IP des bois

Tableau 24 : Résumé des impacts de l'augmentation des IP des barriques de bois de chêne (IP 13, 32, 50 pour le CS / Merlot 2008 et IP 25, 43, 61 pour le CS/Merlot 2010) sur les qualités organoleptiques des vins rouges

Tableau 25 : Caractéristiques du vin 100% CS à la mise en barrique

Tableau 26 : Concentrations extrêmes en ellagitanins totaux des classes d'IP des bois de chêne

Tableau 27 : Concentrations extrêmes en ellagitanins moléculaires des classes d'IP des bois de chêne

Tableau 28 : Concentration maximum en ellagitanins du vin

Tableau 29 : Caractéristiques de l'assemblage CS/Merlot (70/30) à la mise en barrique

Tableau 30 : Caractéristiques du vin 100% Merlot des différentes barriques de l'essai après 6 mois d'élevage

Tableau 31 : Concentrations en arômes du vin rouge 100% Merlot après 6 et 18 mois d'élevage

Tableau 32 : Caractéristiques du vin 100% sauvignon blanc utilisé dans les différentes barriques de l'essai à 6 mois d'élevage

Tableau 33 : Concentrations des composés aromatiques boisés du vin blanc

Tableau 34 : Résumé des impacts de la classification des bois de chêne sur les caractéristiques organoleptiques des vins

Tableau 35 : Caractéristiques du vin 100% Merlot des différentes barriques de l'essai IP/grain après 6 mois d'élevage

Tableau 36 : Concentrations en composés aromatiques du vin 100% Merlot après 6 et 12 mois d'élevage

Tableau 37 : Caractéristiques de l'assemblage CS/Merlot/Syrah après 6 mois d'élevage

Tableau 38 : Caractéristiques des groupes de barriques

Tableau 39 : Dosage de composés aromatiques du bois dans le vin CS/Merlot/Syrah à 6 et 12 mois

Tableau 40 : Résumé des impacts sur les caractéristiques organoleptiques des vins de la classification des bois de chêne, **A** : par rapport à l'augmentation des IP des barriques, **B** ; par rapport à l'augmentation du grain des bois

Tableau 41 : Caractéristiques chimiques des vins issus de l'assemblage Merlot/CS/petit verdot (50/45/5)

Tableau 42 : Concentrations en composés aromatiques du bois de chêne des vins issus de l'assemblage Merlot/CS/petit verdot (50/45/5) après 6 mois d'élevage

Tableau 43 : Résumé des impacts de la classification des bois de chêne sur les caractéristiques organoleptiques des vins, **A** : par rapport à l'augmentation des IP des barriques (IP 11 vs IP 62), **B** ; par rapport à l'augmentation de l'IPT des vins (IPT 77,01 vs IPT 84,01)

Tableau 44 : Caractéristiques du vin d'assemblage CS/CF (93/7) à l'entonnage mois d'élevage

Tableau 45 : Moyennes des seize mesures (huit mesures/barrique de même modalité) d'oxygène dissous

Tableau 46 : Synthèse des impacts de l'augmentation des IP du bois de chêne des barriques sur les caractéristiques organoleptiques des vins

Tableau 47 : Synthèse des impacts sur les caractéristiques organoleptiques des vins, **A** : de l'augmentation des grains du bois de chêne des barriques, **B** : de l'augmentation de l'IPT des vins

## Liste des abréviations

Ø	diamètre
λ	longueur d'onde
μL	microlitre
μm	micromètre
σ	nombre d'onde
ACP	analyse en composantes principales
AFC	analyse factorielle des correspondances
AFNOR	association française de normalisation
ANOVA	analysis of variance (analyse de la variance)
AT	acidité totale
AV	acidité volatile
c	célérité
°C	degré Celsius
CF	Cabernet franc
cm	centimètre
CPG	chromatographie en phase gazeuse
CS	Cabernet sauvignon
Cy-3-glc	cyanidine-3- <i>O</i> -glucoside
Da	Dalton
Df-3-glc	delphinidine-3- <i>O</i> -glucoside
DPm	degré de polymérisation moyen
Do	densité optique
E	énergie
EPO-PLS	external parameter orthogonalisation of partial least square (orthogonalisation externe de paramètre de partiel moindre carré)
ERO	espèces réactives de l'oxygène
f	fréquence
FT	Fourrier transformée
g	gramme
GAE	gallic acid equivalent (équivalent acide gallique)
GF	grain fin

GM	grain moyen
GMF	grain mi-fin
GXF	grain extra-fin
h	heure
HCl	acide chlorhydrique
HHDP	hexahydroxydiphénoyle
hL	hectolitre
HMF	hydroxyméthyl-5-furfural
HPLC	high pressure liquid chromatography (chromatographie liquide haute performance)
H.R.	humidité relative
IC	intensité colorante
IC'	intensité colorante modifiée
IP	indice polyphénolique
IPT	indice de polyphénols totaux
kDa	kiloDalton
kg	kilogramme
kV	kilovolt
L	litre
LC	liquide chromatographie
M-3-act	malvidine-3- <i>O</i> -acétylglucoside
M-3-cm	malvidine-3- <i>O</i> -( <i>p</i> -coumaroyl) glucoside
M-3-glc	malvidine-3- <i>O</i> -glucoside
m	mètre
Max	maximale
MDMP	2-méthoxy-3,5-diméthylpyrazine
MF	méthyl-5-furfural
mg	milligramme
min	minute
Min	minimale
mL	millilitre
mm	millimètre
Moy	moyenne
MS	masse spectroscopie
NHTP	nonhydroxyterphénoyle



NIRS	near infra red spectroscopy (spectroscopie proche infrarouge)
nm	nanomètre
Pn-3-act	paeonidine-3- <i>O</i> -acétylglucoside
Pn-3-cm	paeonidine-3- <i>O</i> -( <i>p</i> -coumaroyl)glucoside
Pn-3-glc	paeonidine-3- <i>O</i> -glucoside
Pt-3-glc	pétunidine-3- <i>O</i> -glucoside
PDA	photodiode array (rangée de photodiodes)
pH	potentiel hydrogène
ppb	partie par milliard
ppm	partie par million
T°max	température maximale
t sat	température de saturation
TAV	titre alcoométrique volumique
TCA	2,4,6-trichloroanisole
TCP	2,4,6-trichlorophénol
UPLC	ultra pressure liquid chromatography (chromatographie liquide ultra-haute pression)
UV-B	ultraviolet-B
v	vitesse
V	volt
vol	volume



# Chapitre 1 : Etude bibliographique

## Introduction générale

Les polyphénols qui constituent une famille de molécules organiques, sont largement présents dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique leur nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire [3]. Le terme polyphénol a été introduit en 1980, en remplacement de l'ancien terme de tanin végétal. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

Ces composés sont nécessaires aux plantes pour se protéger d'effets exogènes délétères grâce à leur capacité d'absorption des UV-B, mais aussi par leurs propriétés antibactériennes et antifongiques [4-6]. Ils jouent également un rôle de vecteur d'interaction avec la faune. Par exemple, leurs colorations permettent une pollinisation et une dissémination des graines au moment optimal et les tanins dissuadent la consommation de certaines plantes, par des herbivores, par leur influence sur le goût. Ils sont donc largement répartis dans le règne végétal (Tableau 1) et dans toutes les parties constitutives de la plante que ce soit les feuilles, la tige, les fruits et légumes ou les fleurs [7, 8].

Légume	Polyphénols totaux (mg GAE / 100g)	Fruits	Polyphénols totaux (mg GAE / 100g)
Artichaut (cœur)	321,3	Fraise	263,8
Persil	280,2	Litchi	222,3
Choux de Bruxelles	257,1	Raisin	195,5
Echalotte	104,1	Abricot	179,8
Brocoli	98,9	Pomme	179,1
Céleri	84,7	Datte	99,3
Oignon	76,1	Cerise	94,3
Asperge	74,5	Figue	92,5
Aubergine	65,6	Poire	69,2
Ail	59,4	Nectarine blanche	72,7
Navet	54,7	Fruit de la passion	71,8
Salade	35,6	Mangue	68,1
Céleri rave	39,8	Pêche jaune	59,3
Radis	38,4	Banane	51,5
Pois	36,7	Ananas	47,2
Poireau	32,7	Citron	45
Poivron rouge	26,8	Nectarine jaune	44,2
Tomate cerise	26,4	Pamplemousse	43,5
Pomme de terre	23,1	Orange	31
Courgette	18,8	Clémentine	30,6
Poivron vert	18,2	Citron vert	30,6
Chicorée	14,7	Kiwi	28,1
Tomate	13,7	Pastèque	11,6
Fenouille	13	Melon	7,8
Chou-fleur	12,5		
Carotte	10,1		
Haricot	10		
Avocat	3,6		

Tableau 1 : Teneurs en polyphénols de différents légumes et fruits  
GAE : équivalent acide gallique

Parmi les polyphénols, les flavanols et les anthocyanes contribuent à la couleur de différentes parties de la plante comme les fleurs, les fruits et légumes et parfois même les feuilles. En effet, ces derniers peuvent prendre une couleur allant d'un jaune plus ou moins intense, à des couleurs allant de l'orange au mauve. Ces différentes couleurs prises par les polyphénols vont être influencées par le milieu [9, 10] ainsi que par la structure moléculaire [11-13] des molécules mises en jeu.

Il a également été étudié les propriétés organoleptiques des polyphénols sur l'amertume et l'astringence. En effet, l'amertume des flavan-3-ols et des tanins a été depuis longtemps observée [14] ainsi que leur astringence [15-19]. La conformation stéréochimique des groupements hydroxyles sur les hétérocycles [17, 20] et le degré de polymérisation des tanins [21, 22] jouent un rôle important sur leurs propriétés organoleptiques. Le milieu (concentration en sucres, en acide tartrique, en flavan-3-ols, éthanol, pH...) module également l'amertume et l'astringence de ces composés [23-25]. Des interactions moléculaires au sein des papilles gustatives pour l'amertume et des protéines de la salive pour l'astringence ont été mises en évidence. Plus récemment, plusieurs études se sont intéressées aux propriétés organoleptiques des tanins du bois de chêne ou ellagitanins [26-28]. Les seuils de perceptions trouvés montrent que la glycosylation du C1, la nature du flavanol lié et le type de liaison tanins/flavan-3-ol jouent un rôle sur les perceptions d'amertume et d'astringence de ces molécules.

Les polyphénols ont aussi été largement étudiés pour leurs effets sur la santé, « french paradox » [29, 30], et leur implication dans la prévention des cancers [31], maladies cardiovasculaires [32-37], neurodégénérescence [38] et autres pathologies [39-47]. Ces implications peuvent être expliquées par leurs propriétés antioxydantes [44, 48-53] et leurs interactions avec des protéines (kinases, facteur de transcription...) qui permettent une inhibition des enzymes productrices d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou une stimulation de la synthèse d'enzymes antioxydantes [54, 55]. En effet, *in vitro*, il a été montré que les flavonoïdes ont des propriétés de piégeage des ERO [56, 57], de chélation des ions métalliques [56, 58-60] et d'inhibition d'enzymes impliquées dans la production d'ERO [61]. *In vivo*, leur rôle est moins exploré mais il semblerait que leur action se situe plus au niveau de la régulation de l'expression de certains gènes [56, 62-64]. Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques corroborent leur rôle bénéfique sur la santé [65-71].

Parmi les différents rôles possibles des polyphénols dans le vin : sur leurs caractères organoleptiques, sur leur incidence santé, notre étude a essayé de déterminer les conséquences

chimiques et organoleptiques des ellagitanins, une classe de tanin hydrolysable apportée par le bois lors de son contact avec le vin.

Dans une première partie de cette thèse, nous présentons les principales caractéristiques des ellagitanins du bois de chêne et des autres polyphénols du raisin et du vin ainsi que leurs évolutions chimiques et organoleptiques. Puis une nouvelle méthode de classification des bois par proche infrarouge (NIRS) en fonction de leur indice polyphénolique est exposée, Oakscan®.

Le second chapitre est consacré à la description des différentes techniques d'analyses chimiques et sensorielles utilisées.

Le chapitre 3 présente les résultats de dosage des ellagitanins dans le bois de chêne classifié par NIRS ainsi que dans le vin élevé au contact de ce dernier. La cinétique d'extraction et d'évolution des ellagitanins dans un vin élevé en cuve inox au contact de staves classifiés en ellagitanins est étudiée. Les impacts organoleptiques de la classification des bois de chêne et des concentrations en ellagitanins des vins sont ensuite analysés par des dégustations.

Le chapitre 4 mesure un suivi cinétique et organoleptique des ellagitanins du bois de chêne pour différents types et cépages de vins rouges et blancs élevés en barriques classifiées par NIRS et possédant des IP moyens significativement différents.

Le chapitre 5 étudie l'extraction des ellagitanins à la fois en fonction de leurs teneurs dans les bois des barriques mais aussi en fonction du grain de ces bois avec un suivi des propriétés organoleptiques des vins par des dégustations.

Le chapitre 6 s'intéresse aux modifications d'évolution des concentrations en ellagitanins dans les vins à indice polyphénols totaux significativement différents. Les conséquences organoleptiques des différences cinétiques sont analysées après dégustations.

Le chapitre 7 est consacré à l'impact de l'IP des bois de chêne des barriques ainsi que de leurs grains sur la vitesse de consommation de l'oxygène d'un vin rouge entonné.

# **1. Le bois de chêne en œnologie**

## **1.1. Historique**

Vers 2500 ans avant Jésus Christ, l'utilisation des outres puis des premières amphores (de *amphi* : double, double poignée et de *phorein* : porter) et jarres en terre cuites (l'Odyssée, IX-XIII) pour le transport des produits alimentaires apparut. L'utilisation de ces dernières pour le vin fut confirmée par des fouilles archéologiques d'épaves contenant des amphores encore intactes. A cette époque, les vignobles se situent essentiellement en Mésopotamie, Syrie et Egypte, régions dont les massifs forestiers sont rares, ce qui dans un premier temps explique l'inutilisation du bois dans la fabrication des contenants. A cette époque, les régions plus au nord riches en bois consomment essentiellement de la bière, qui, quand à elle était élaborée dans des tonneaux (*tunna* : récipient ou tonna ; peau). En effet, la naissance du tonneau remonterait bien avant le IX<sup>ème</sup> siècle avant Jésus Christ en Asie mineure (Homère, l'Iliade, XXIX, 527-533).

C'est vers 225 avant Jésus Christ que l'extension du tonneau pour le transport du vin sur toute la méditerranée apparaît jusqu'à la quasi disparition de la jarre vers 69 avant Jésus Christ [72]. Les douelles étaient à cette époque maintenues par des liens de bois puis, beaucoup plus tard, par des cercles métalliques. En effet, la barrique est plus résistante aux chocs et aux pressions ce qui permet son empilement. Sa forme, grâce au cintrage, facilite son déplacement par roulement et permet aux lies de se tasser au fond et donc de ne plus être aisément remises en suspension. Le moyen de conserver et de transporter un liquide qui se clarifie venait d'être trouvé dès cette époque mais malgré cela, le tonneau n'est pas encore utilisé pour l'élevage des vins.

Ce n'est que vers les XVII<sup>ème</sup> et XVIII<sup>ème</sup> siècles que les techniques d'élevages et de vieillissement des vins se généralisent et avec lui, l'hégémonie du chêne. En effet, à cette période, la majorité du vin de Bordeaux était expédié en Angleterre à l'aide de barriques neuves réputées plus solides pour le transport juste après la vinification, sur lies. Les importations étant de plus en plus importantes aux cours des années et avec elle la durée de la conservation du vin en barrique, il est apparu nécessaire de soutirer, clarifier et changer les vins de barrique. La mise au point des techniques d'élevage par les négociants londoniens fut rendu plus ardue à cause de la méconnaissance du méchage qui ne va débiter et se généraliser qu'au début de XVIII<sup>ème</sup> siècle [73] bien que connu en Moselle depuis le XV<sup>ème</sup> siècle [74].

Soixante ans auparavant, l'utilisation de nombreuses espèces comme le châtaignier, l'acacia, l'eucalyptus, le frêne, l'aulne, l'hêtre, le peuplier, le pin et le palétuvier cohabite avec celle du chêne dans la confection des fûts car celle-ci n'était pas uniquement dédiée à l'élevage des vins. Mais progressivement par la diminution des attributions des tonneliers et devant le constat que seul le chêne permettait d'améliorer les propriétés organoleptiques de vins tout en répondant à un cahier des charges contraignant, celui-ci s'imposa [75]. En effet, le bois destiné à la tonnellerie doit répondre à plusieurs critères et le chêne permet de mieux les remplir :

- facilité de cintrage au feu
- excellente porosité au gaz tout en étant peu perméable aux liquides ce qui favorise les réactions physico-chimiques (clarification, stabilisation de la couleur...)
- formation de molécules aromatiques à caractère positif (vanille, coco, fumé, grillé) lors de la chauffe
- présence de molécules gustatives apportant astringence et peu d'amertume
- bonne protection thermique et bonnes propriétés mécaniques
- résistance aux attaques de micro-organismes.

## **1.2. Le bois en tonnellerie**

### **1.2.1. Le chêne**

La taxonomie du chêne peut se résumer de la façon suivante [76] ;

- Règne : Végétaux
- Embranchement : Spermaphytes
- Classe : Angiospermes
- Ordre : Dicotylédones
- Famille : Fagacées
- Genre : *Quercus*

Le genre *Quercus* compte plus de 250 espèces situées principalement dans les zones tempérées de l'hémisphère nord [77] (Figure 1 A.). Mais aujourd'hui, les tonneliers utilisent principalement trois types de chêne appartenant à l'espèce *Quercus* et plus précisément au sous genre *Euquercus* et à la section *Lepidobalanus* ; *Quercus robur*, *Quercus petraea*, (Figure 1 B.) qui sont d'origine européenne, et *Quercus alba* ou chêne blanc d'Amérique



[78, 79]. Le genre *Quercus* se distingue des autres genres par ses chatons mâles pendants, ses fleurs femelles positionnées sur des parties distinctes, sa cupule isolée et symétrique et par ses ovaires à 3 loges.

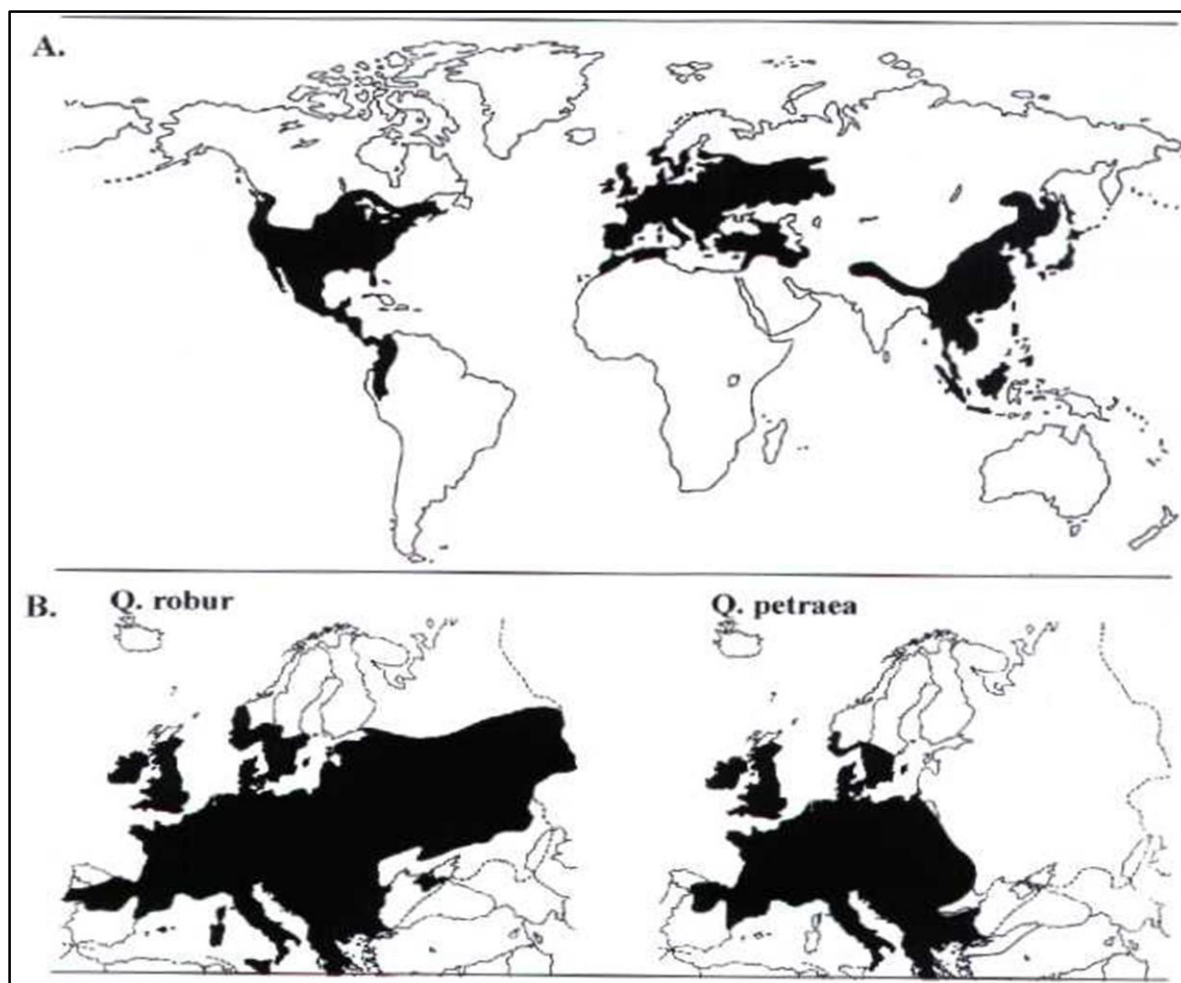


Figure 1 : **A** : Aire de répartition du genre *Quercus*, **B** : Aire de genre *Quercus robur* (gauche) et *Quercus petraea* (droite)

Plus précisément sur les chênes utilisés majoritairement en tonnellerie, le chêne pédonculé ou *Quercus robur* peut atteindre 25 m de hauteur avec une cime divisée en plusieurs branches. Il peut vivre plus de 300 ans et est exploité pour la tonnellerie entre 150 et 250 ans. Son aire de répartition est plus étendue que celle de *Quercus petraea* surtout vers l'Asie [80-82] (Figure 1 **B.**). Il pousse plutôt sur des sols riches et frais (limons marneux, marnes calcaires,...). Les feuilles sont portées par un pétiole court et groupées en bouquet à l'intérieur d'un rameau. Les glands, portés par un pédoncule de 2 à 9 cm peuvent être groupés par 2 ou 3.

*Quercus petraea* ou chêne sessile, ou encore chêne rouvre [82, 83], peut atteindre plus de 30 m et sa cime est mieux dessinée que celle de *Quercus robur*. Il peut vivre de 300 à

350 ans et est exploité en moyenne entre 180 et 250 ans. Il préfère les climats océaniques doux ce qui explique pourquoi il ne s'étend pas aussi loin que son frère, *Quercus robur*, à l'intérieur de l'Asie [80-82] (Figure 16 **B.**). Il pousse sur des sols limoneux sableux mais supporte les sols pauvres et acides. Les feuilles, à l'extrémité d'un pétiole de 12 à 15 mm, sont espacées le long des rameaux. Les glands sont attachés directement sur le rameau ou à l'extrémité d'un pédoncule très court.

*Quercus alba* lui atteint plus de 30 m et peut vivre jusqu'à 500 ans. Il pousse sur la moitié Est des États-Unis jusqu'aux rives du Mississippi. Il est considéré comme un arbre à croissance rapide. Ces feuilles se distinguent par des lobes plus arrondies à leurs extrémités. Son écorce est de couleur jaune et la couleur du bois est plus pâle. La structure et la morphologie de son bois sont bien distinctes de celles de *Quercus robur* et *petraea*. En effet, il possède des thylls plus épais, environ dix fois, ce qui permet de le travailler par sciage pour la tonnellerie tout en restant étanche et non par fendage comme pour les espèces européennes [84, 85].

D'autres espèces du genre *Quercus* mais aussi du genre *Castanea* sont plus rarement utilisés aujourd'hui par les tonneliers.

*Quercus pyrenaïca* ou chêne tauzin est de taille plus petit pouvant atteindre 20 m et vivre jusqu'à 500 ans. Son aire de répartition va du sud-ouest de l'Europe (péninsule ibérique, sud de la façade atlantique de la France et nord de l'Italie) jusqu'au nord du Maroc. En effet, il affectionne particulièrement le climat atlantique aux hivers très doux et les sols acides, secs, sableux et pauvres en éléments nutritifs. Il est également considéré comme une essence pionnière étant héliophile. Ses feuilles pubescentes, à l'extrémité d'un pétiole court (8 à 10 mm), mesurent jusqu'à 20 cm et présentent 4 à 8 lobes échancrés. Les glands sont portés par un pédoncule court mesurant environ 3 cm de long. A l'inverse des trois précédentes espèces, il s'agit du chêne dit « rouge » caractérisé par un bois de coloration rougeâtre. Ce dernier est moins utilisé en tonnellerie en raison de la forme de son tronc possédant de nombreuses ramifications dès la base de l'arbre et donc de nœuds. De plus, lors du séchage, d'importantes déformations et de nombreuses fentes apparaissent [86].

*Quercus faginea* ou chêne faginé peut atteindre jusqu'à 20 m de haut et vivre jusqu'à 600 ans. Il croit en Afrique du nord et dans la péninsule ibérique sur différents types de sol plutôt frais et profond. C'est une espèce héliophile. Ses feuilles tomenteuses sur leurs faces inférieures mesurent jusqu'à 15 cm et sont coriacées et dentées. Ces glands sont portés

individuellement ou par paire par un pédoncule court. Comme le chêne tauzin, c'est un arbre buissonnant riche en nœud ce qui limite son utilisation en tonnellerie.

*Castanea sativa* ou châtaignier fût également utilisé en tonnellerie (cf chapitre 1, 1.1). Il appartient à la famille des *Fagaceae*, comme *Quercus*, mais au genre *Castanea*. Cet arbre peut mesurer jusqu'à 35 m et peut vivre jusqu'à 1000 ans mais est exploité par la tonnellerie entre 30 et 40 ans [87]. Son aire de répartition se situe autour de la Méditerranée mais aussi en Asie Mineure et dans la région du Caucase. Il apprécie les sols schisteux, granitiques, alluvionnaires et acides. Il porte de grandes feuilles caduques pouvant aller jusqu'à 25 cm de long aux bords en dents de scie au bout d'un pétiole court. Il fleurit de la mi-juin à la mi-juillet, les chatons mâles, dressés à la floraison et disposés à la base des rameaux, apparaissent les premiers et répandent alors une forte odeur de sperme ou de miel, les chatons femelles se réunissent par trois et sont disposés plus au sommet. Les fruits, les châtaignes, sont réunies au nombre de 1 à 3, à l'intérieur d'une bogue épineuse. Aujourd'hui, son utilisation en tonnellerie est anecdotique par rapport au chêne, son bois étant généralement très riche en ellagitanins, mais surtout des phénomènes de roulure, formation d'une fente tangentielle qui suit la direction d'un cerne (séparation de structure entre le bois d'été d'une année et le bois de printemps de l'année suivante) beaucoup plus fréquente que chez le chêne.

Le bois et notamment le chêne, est principalement composé de deux types de tissus, l'aubier et le bois de cœur ou duramen ou encore bois parfait (Figure 2).

L'aubier, situé à la périphérie du tronc, est d'une épaisseur de 10 à 20 cernes [88] et conduit la sève de l'arbre. C'est la partie vivante du tronc qui permet à l'arbre de grossir. Dans cette partie la plus externe, il contient une mince couche de cellules appelée cambium (Figure 2). C'est au niveau de cette assise que de nouvelles cellules sont formées. Sur la face externe du cambium, les cellules vont donner le liber dont la plupart des cellules qui le composent sont mortes, c'est l'écorce, mais dont la partie la plus interne possède des canaux de phloème qui amènent la sève élaborée des feuilles jusqu'aux racines. La face interne du cambium va donner l'aubier qui est composé de cellules plus ou moins vivantes en voie de duraminisation (Figure 2). Ces cellules transportent la sève brute appelée xylème, des racines aux feuilles. L'aubier s'organise en anneaux annuels de croissance qui vont permettre de connaître l'âge de l'arbre. Ces anneaux de croissance se caractérisent par une zone initiale constituée essentiellement de gros vaisseaux (300 à 500  $\mu\text{m}$  de diamètre) appelée bois de printemps ou bois initial et une zone terminale ponctuée de vaisseaux plus mince (10 à 20  $\mu\text{m}$

de diamètre) appelée bois d'été ou bois final [89]. L'apport de nutriments du liber interne et de l'aubier au cambium se fait grâce à des petits vaisseaux transversaux appelés parenchymes et rayons ligneux [86]. L'aubier peut être caractérisé par une couleur plus claire que le bois parfait.

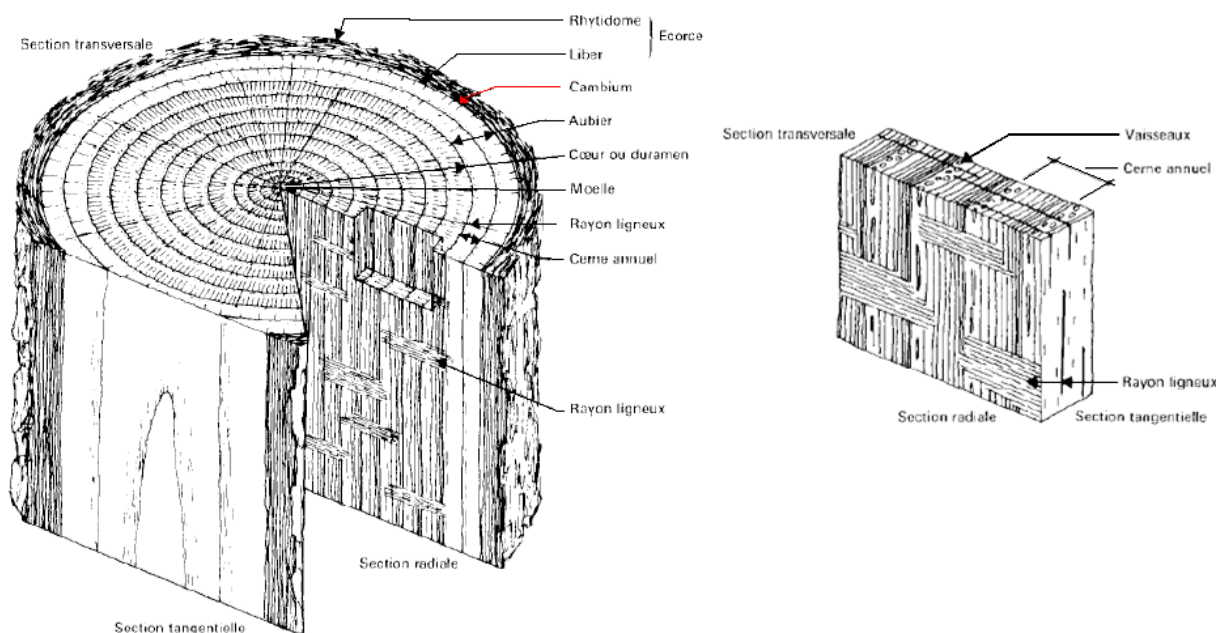


Figure 2 : Schéma d'une section d'un tronc d'arbre

Le bois de cœur se forme à partir des couches profondes de l'aubier. Ces dernières subissent une duraminisation qui se traduit par trois facteurs : une imprégnation des parois cellulaires de substances (tanins, lignine) synthétisées par les cellules du parenchyme, une obstruction des vaisseaux par des thylls et généralement, l'apparition d'une coloration plus foncée que celle de l'aubier [88]. La duraminisation entraîne la mort de cette partie de l'arbre qui va devenir plus dur, compact, dense, sec et imputrescible. C'est la partie de l'arbre la plus résistante d'un point de vue mécanique. C'est cette zone qui est utilisée en tonnellerie, sauf la partie la plus centrale du bois où subsiste une zone plus molle constituée des tissus les plus jeunes qui ne subissent pas de transformation.

## 1.2.2. Fabrication de la barrique

### 1.2.2.1. Sélection des bois et des grumes

Le bois de tonnellerie doit répondre à plusieurs critères qui vont rendre la sélection de l'arbre, en amont, importante. Seul le premier tiers de l'arbre est généralement utilisé pour la tonnellerie et doit faire 1,10 m de long, soit la taille d'une douelle traditionnelle, ou un

multiple de ce chiffre. C'est sur cette partie de l'arbre que les contraintes vont être prises en compte. Les trois principaux critères de sélection sont ;

- les caractères morphologiques et anatomiques du tronc
- les attaques fongiques
- les dégâts sur le bois liés à des attaques d'animaux.

La partie de l'arbre utilisée en tonnellerie doit avoir un diamètre entre 40 et 60 cm, droit de fil, un aubier clair et étroit et de préférence, les cernes d'accroissement de l'arbre doivent être d'épaisseurs régulières et sans variation notable. Le bois doit également être dépourvu de nœuds car ceux-ci entraînent des difficultés lors du fendage et du cintrage mais également ils peuvent être responsables de fuites dues à la perturbation des fibres du bois. Plus généralement, les caractéristiques morphologiques du tronc sont à prendre en compte. Celui-ci doit avoir un « cœur » le moins excentré possible, une courbure faible et un duramen régulier sans lunure (cerne n'ayant pas subi de duraminisation) [90].

Les attaques de champignons vont entraîner diverses altérations comme une désorganisation de l'ultrastructure du bois, une dégradation biochimique des composés phénoliques et une déviation de la couleur du bois. Celles-ci ont pour conséquence une perte des propriétés mécaniques du bois et parfois des risques de déviations organoleptiques conférables au chêne sont possibles. Plusieurs études ont récemment montrées la contamination sporadique des douelles par des composés de type 2,4,6-trichloroanisole (TCA), 2,4,6-trichlorophénol (TCP) [91] ou 2-méthoxy-3,5-diméthylpyrazine (MDMP) [92], arômes conférant au vin des déviations organoleptiques de type « planches », « sève » ou « moisi » [93]. En effet, entre 2002 et 2006, 0,15% des barriques produites ont engendré des réclamations pour des contaminations au TCA de différents vins. Plusieurs sources de contaminations peuvent être supposées. En premier lieu, la contamination des bois par des chlorophénols, précurseurs des chloroanisoles, a pu être observée sur des bois traités à l'échelle des grumes ou alors travaillés dans des sites industriels contaminés. Le transport des bois dans des containers ayant été traités ou ayant servi à transporter des pesticides peut être une des sources de pollution des bois. De plus, lors du transport des bois frais, une fumigation chimique aux halogénoalcanes n'est pas rare. Or, le bromométhane ( $\text{BrCH}_3$ ), un halogénoalcane, catalyse par substitution électrophile sur le TCP la formation de TCA. Malgré tout, la source de contamination vraisemblablement la plus importante demeure le séchage des bois à l'air libre. En effet, durant cette étape de maturation du bois, ce dernier est colonisé par un ensemble de microorganismes tels que des moisissures de type fongique

(Deutéromycètes, Zygomycètes...) ou leuvuriens (*fungi imperfecti*). Or, un grand nombre de ces organismes sont capables de synthétiser des chlorophénols comme de TCP [94, 95], transformable durant le vieillissement des merrains en TCA ainsi que des méthylpyrasines [92].

Les dégâts mécaniques pouvant être dus aux insectes (galeries...), ou aux gibiers, oiseaux et aux passages d'engins mécaniques (cicatrices, inclusion de corps étrangers...) vont déprécier la qualité du bois et diminuer la part de bois utilisable en tonnellerie [90].

#### **1.2.2.2. Fendage ou sciage des bois**

Les opérations qui vont conduire à la forme du merrain doivent être réalisées le plus rapidement possible et sous 12 mois maximum. En effet, la grume, à ces extrémités, peut être attaquée par des parasites xylophages qui peuvent pénétrer le bois par les fentes. Celle-ci va également subir un séchage de ces extrémités ce qui va entraîner la formation de fentes radiales préjudiciables au futur fendage. Si les travaux ne peuvent être effectués rapidement, un enduit imperméable et insecticide peut être appliqué.

Tout d'abord, la grume va être sciée en billon (Figure 3), soit à la longueur des douelles (0,90 à 1,15 m) plus 2,5 cm à chaque extrémité qui sont conservés pour compenser le retrait dû au séchage, mais aussi pour prévenir la formation d'éventuelles fentes. Par la suite, on pourra obtenir l'ébauche du merrain par fendage ou par sciage. Ce dernier est beaucoup plus économique car le fendage ne permet l'utilisation que de 25% du bois du billon. Par contre, il ne respecte pas le fil du bois et donc coupe plusieurs canaux du xylème et du phloème ce qui va compromettre l'étanchéité des douelles. Seul les bois ayant des thylles assez épais, comme *Quercus alba*, permet cette opération sans perte d'étanchéité, elle n'est donc pas envisageable pour *Quercus robur* et *Quercus petraea*.

Le fendage va débiter par la séparation du billon en doublon grâce à une lame de métal pénétrant le billon en suivant l'axe radial dans le sens de la maille. L'écorce, aubier et le bois de cœur sont éliminés, alors que le duramen, lui, sert à produire les merrains par de nouveau fendage. Avant la mise en séchage, une nouvelle sélection est faite en éliminant les bois qui contiennent des défauts imperceptibles lors du choix des bois.

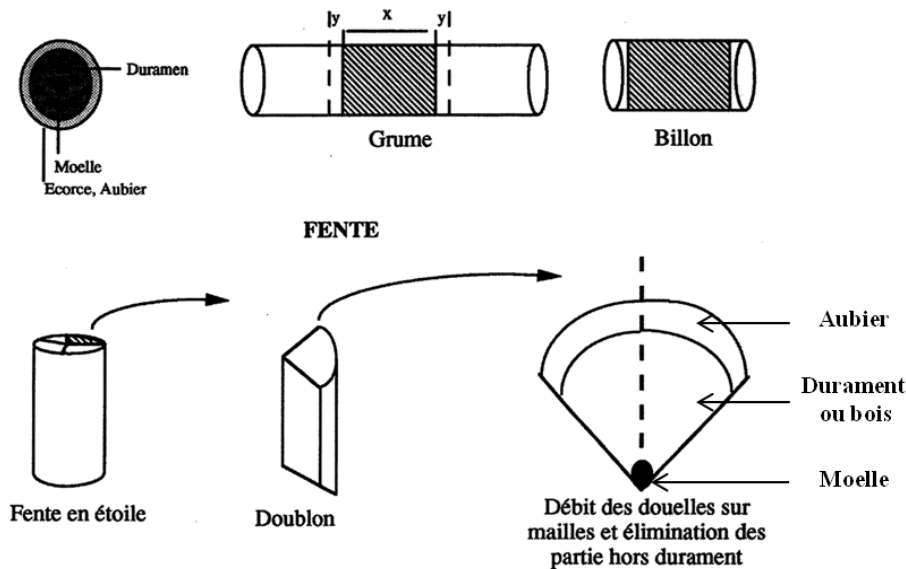


Figure 3 : Travail de sciage et de fendage de la grume ( $x$  = longueur de la future douelle après écourtage) (Vivas, N., 2002)

### 1.2.2.3. Séchage du bois

Juste après le fendage, le bois ne peut directement être utilisé pour fabriquer la barrique. En effet, son hygrométrie importante (65 à 75%) va entraîner des modifications de dimension (15% de sa longueur en moyenne) mais aussi chimique. Pour une stabilité de la barrique, le bois doit avoir un taux d'humidité de 14 à 18%, c'est pourquoi un séchage, soit naturel, soit artificiel au sein d'une étuve est fait. Puis, lors de l'utilisation de la barrique, l'humidité du bois remontera aux alentours de 30% et le gonflement inhérent à cela assurera l'étanchéité de la barrique.

Le séchage naturel du bois consiste d'une part à empiler les merrains sur des piles surélevées pour éviter les projections de terre et le pourrissement et d'autre part à les parquer de 12 à 36 mois à l'air libre en fonction de la qualité des bois désirée. Les piles de bois sont montées de manière à laisser le vent circuler à l'intérieur, c'est principalement grâce à ce dernier que les pièces vont sécher. Au cours des 6 premiers mois, le séchage du bois est rapide. C'est aussi durant cette période que le lessivage par la pluie ou par moyen artificiel est le plus important. En effet, plusieurs composés hydrosolubles comme les ellagitanins peuvent être entraînés. Après 6 mois, le bois qui contient alors une hygrométrie de moins de 35% est moins sujet au lessivage. Les fibres sont resserrées et ne laissent passer que très peu l'eau de ruissellement. C'est à partir de ce laps de temps que le séchage en profondeur, plus lent, va réellement commencer et ce jusqu'à environ 12-18 mois. Au-delà, le bois peut encore rester sur le parc pour subir une « maturation » plus longue. Durant tout le séchage, le bois subit plusieurs modifications chimiques qui conduisent à la diminution des teneurs en polyphénols comme les ellagitanins ou les flavonols, par lessivage des bois, mais aussi à des modifications

de structures caractérisées par des oxydations, des polymérisations et des condensations avec des polymères de la paroi. Ces différentes réactions sont catalysées par l'oxygène de l'air ou dissous dans l'eau de pluie et par la flore fongique présente surtout à l'intérieur du bois de chêne [90, 96].

Par exemple, l'étude de l'évolution des ellagitannins durant le séchage a montré une augmentation des teneurs en castaline et en vescaline qui proviennent respectivement du clivage de l'unité hexahydroxydiphénique de la castalagine et de la vescalagine. Des formes oxydées ou insolubles liées à la paroi apparaissent également [97]. Les coumarines vont également subir une déglycosylation par hydrolyse enzymatique ce qui va avoir un fort impact sur leurs propriétés organoleptiques. En effet, il a été montré que les formes aglycones (aesculétine, scopolétine) des coumarines n'ont pas d'impact sur le plan organoleptique alors que leurs formes hétérosides (aesculine, scopoline) participent fortement à l'amertume et aux sensations de verdeur des vins [96, 98, 99]. La formation d'aldéhydes phénols de type coniféraldéhyde et sinapaldéhyde qui s'accumulent dans le bois pendant l'étape de séchage a également été observée. Ces derniers proviennent de la dégradation oxydative ou enzymatique de la lignine des bois [100]. L'accumulation de vanilline et de syringaldéhyde lors du séchage est quant à elle due à l'oxydation des  $\alpha$ -propanones ( $\text{CHO-CH=CH}$ ) [101, 102]. Les lipides et les caroténoïdes contenus dans le bois vont également subir une dégradation enzymatique ou oxydative ce qui amène à la formation de composés nor-isoprénoïdes ou à des composés ayant des odeurs jugées négatives comme moisi (octène-3-one-1), planche (nonanal) ou fongique (méthyl-isobornéol) [90]. Ensuite, lors du séchage, l'accumulation de *cis*-méthyl-octalactone ou whiskey lactone (odeur de noix de coco) augmente. En effet, une partie de sa forme *trans* se transforme en sa forme *cis* plus odorante. Cette augmentation peut aussi s'expliquer par la  $\beta$ -oxydation puis par cyclisation d'acide gras méthylé catalysées par les enzymes des micro-organismes colonisant les merrains [103]. A travers ces exemples, l'augmentation quantitative et qualitative du pouvoir odorant des bois va fortement varier au cours du séchage, c'est pourquoi il est souvent dit que le sérieux d'un tonnelier est en relation avec le soin qu'il apporte au séchage naturel des bois, seul moyen de donner des bois adaptés à l'élevage et à la bonification des vins [104].

Le séchage artificiel est effectué dans une étuve ventilée et thermorégulée autour de 30-40°C. Cette méthode permet de faire gagner du temps au tonnelier puisque seul 9 mois sont nécessaires. Ce type de séchage, pour limiter l'apparition de fente, est discontinu [105]. Le bois subit des périodes d'étuvage et de stabulation sous abris ventilés. Mais la plus part du temps, ce mode de séchage n'est pas utilisé seul mais en complément du séchage naturel pour



permettre par exemple une homogénéisation de l'hygrométrie des bois d'une pile [90]. Néanmoins, si ce type de séchage n'est pas propice à l'utilisation des bois pour les produits vineux, il l'est pour les bois destinés au marché des bourbons et whisky.

#### ***1.2.2.4. Le montage de la coque***

Le merrain sec va subir plusieurs opérations de sciage qui va lui donner une forme qui permet l'assemblage en barrique en tenant compte du bouge (forme du fût plus renflé en son centre et de sa forme cylindrique). Pour cela, les douelles sont écourtées à leur extrémité ce qui permet d'éliminer les zones avec des fentes et des infections microbiennes (Figure 4). Puis viennent le jointage et le fléchage qui permettent d'assurer des joints entre douelles étanches une fois la barrique montée. Pour finir, le dolage et l'évidage vont permettre de donner une forme concave sur la partie extérieure et convexe pour celle de l'intérieur pour préparer la barrique au cintrage, sans quoi, les douelles casseraient plus facilement [106].

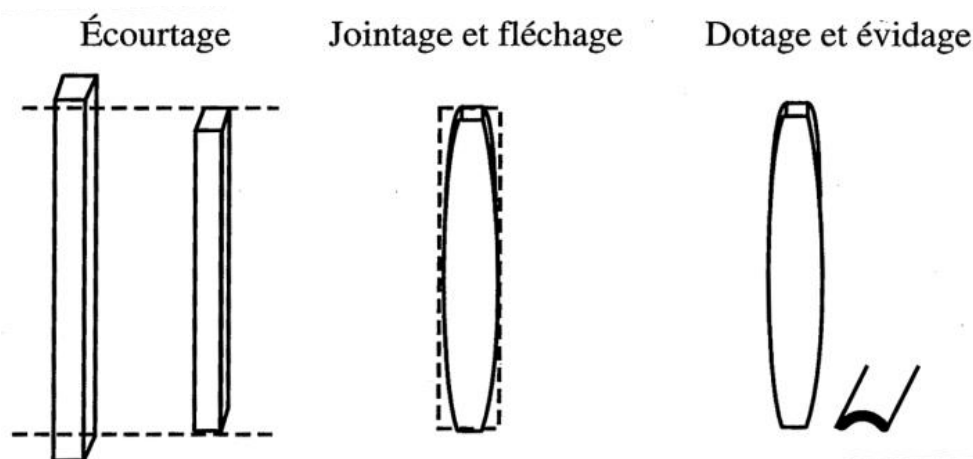


Figure 4 : Forme de la douelle après travaux de sciage (Vivas, N., 2002)

Une fois les douelles ayant acquis leur forme définitive, celles-ci sont assemblées par groupe de 25 à 30 avec une alternance entre les douelles larges et étroites sur un premier cercle appelé moule. A ce moment là, la barrique est en rose, c'est-à-dire que les douelles non cintrées sont maintenues par un cercle métallique sur leur partie supérieure et l'ensemble présente une forme tronconique.

#### ***1.2.2.5. Cintrage et chauffe aromatique***

Le montage en rose est prêt à être cintré, c'est-à-dire, donner aux douelles leur bouge. Ce cintrage est rendu possible grâce à la composition intrinsèque du bois, soit la présence de la lignine et des hémicelluloses (Figure 5) qui, par chauffage, perd une partie de sa rigidité. Pour cela, le bois est amené progressivement en température pour permettre une chauffe jusqu'au cœur du bois ce qui est réalisé grâce à l'humidification régulière du bois qui va faire

chuter la température de surface et éviter le « brûlage » de ce dernier. Après 15 à 20 min, le bois qui a atteint en surface 110 à 120°C et 70 à 80°C en profondeur peut être cintré à l'aide d'un cabestan (treuil à axe vertical) dont le câble est déposé autour de la base du fût. La pose du cercle de la base est réalisée puis pour donner la forme définitive du fût, la « recuisson » est opérée. Elle consiste à chauffer le fût pendant quelques minutes de manière à ce que le bois atteigne 180 à 200°C en surface et 80 à 90°C en profondeur [106].

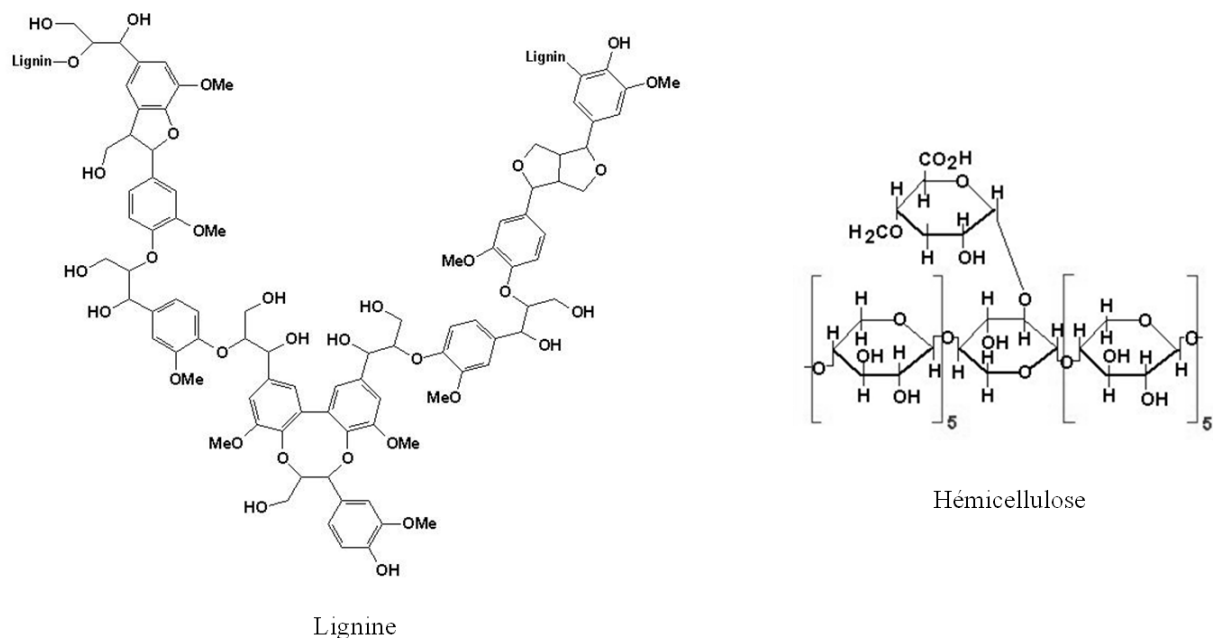


Figure 5 : Structure possible de la lignine et de l'hémicellulose

Juste après le cintrage, une nouvelle chauffe dite aromatique va être appliquée sur la coque du fût. En fonction des attentes du tonnelier, cette chauffe est variable tant au niveau de sa durée que de la température de surface des douelles atteinte. Elle va permettre la formation de nombreuses molécules aromatiques par dégradation thermique des composés du bois. En effet, la dégradation des sucres, aldohexoses et pentoses, contenus dans la cellulose et les hémicelluloses entraîne principalement la formation d'aldéhydes furaniques comme l'hydroxyméthyl-5-furfural (HMF) et le méthyl-5-furfural (MF). Ces composés ont des odeurs de caramel, d'amande grillée et d'amande. La dégradation par dépolymérisation des lignines [107] produit de très nombreux aldéhydes phénols comme la vanilline (odeur de vanille), ainsi que des phénols cétones comme le syringol (odeur fumée) qui vont apporter des notes fumées, épicées et/ou phénoliques au vin. Les ellagitanins, eux, subissent une dégradation croissante avec l'intensité de la chauffe qui module donc l'apport tannique du bois au vin [108].

### **1.2.2.6. Les fonds**

La pose des fonds nécessite un rognage des extrémités des douelles pour permettre leur pose. Les travaux nécessaires sont l'écabossage, la formation du jable, encoche dans laquelle viendra se positionner le fond et la formation du pas d'asse (Figure 6). Les fonds, composés de 5 à 8 pièces, sont montés à partir de merrains raccourcis à cause des défauts précédemment cités. Les pièces sont assemblées à l'aide de goujons, c'est l'appariement. Puis des bandes de jonc sont placées entre chaque pièce pour en assurer l'étanchéité. Finalement, les fonds sont traditionnellement liés à la coque par une pâte à base de farine, de cendre et d'eau sur les bases d'une pâte à pain [106]. Cependant aujourd'hui, en raison des attaques d'insectes et des allergies au gluten que cela a entraîné, de nouvelles « colles » sans farine sont utilisées.

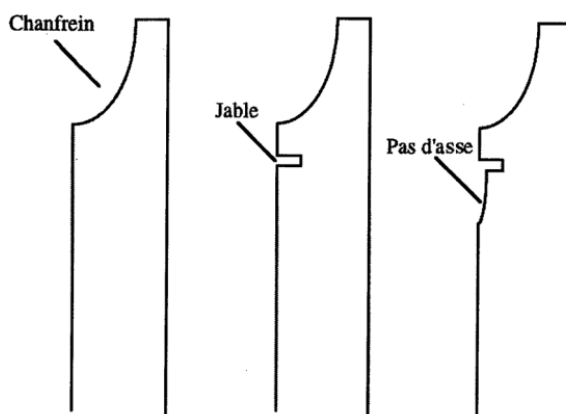


Figure 6 : Travaux préparatoires en bout de douelle à la pose des fonds (Vivas, N., 2002)

### **1.2.2.7. Les cercles**

Historiquement, les cercles utilisés au nombre de 4 à 9, étaient en bois, le plus souvent en écorce de châtaignier. Les cercles de tête assurent la protection des extrémités de la futaille. Les cercles de sous-tête retiennent les fonds dans le jable et resserrent les douelles. Les collets ou feuillards maintiennent les douelles jointives et les cercles de bouge évitent aux douelles d'avoir du « jeu ». Ils permettent donc une manutention plus aisée ainsi qu'une protection du bois des douelles contre les chocs. Aujourd'hui, les cercles en fer ont largement remplacé le bois qui reste utilisé sur certaines barriques pour leur aspect décoratif [106].

### **1.2.2.8. Les finitions et contrôles**

Les pièces de bois vont être rabotées au bouge et poncées sur leur ensemble, les cercles sont resserrés, le trou de bonde est créé et divers travaux de décoration/ finition peuvent être menés (pose de cercles en bois, brûlage du trou de bonde, pose d'une barre de fond, pose de robinet, marquage par brûlure des noms du tonnelier et du château...).

Pour finir, la barrique est éprouvée pour vérifier son étanchéité surtout au niveau du chanfrein. Pour cela, la barrique est remplie d'eau mise sous pression puis roulée. Si des fuites apparaissent, la pièce défectueuse peut être changée, les cercles resserrés, ou des coins de bois ou pinette posés.

### 1.2.3. Méthode de sélection empirique

Depuis de nombreuses années, les tonneliers ont pris conscience de l'importance de la sélection des bois. En effet, pour faire un bon vin, celui-ci doit être au contact avec un bois de qualité qui saura lui apporter en quantité modérée ses composés extractibles (ellagitannins, lignanes, acides phénols, whisky-lactones, vanilline...) sans renforcer l'astringence et l'amertume en bouche, mais aussi sans écraser le bouquet fruité du vin par ses arômes boisés. C'est pourquoi, tout au long de l'histoire de la barrique (cf chapitre 1, 1.1.), une sélection dans un premier temps des essences de bois utilisées fut appliquée [79, 104]. Aujourd'hui, *Quercus robur*, *petraea* et *alba* restent les 3 principaux chênes utilisés en tonnellerie. Cette sélection naturelle et empirique, basée sur la dégustation, commença donc dès la mise au point des techniques d'élevage du vin en fût de chêne.

Ainsi, dès le début du XX<sup>ème</sup> siècle, on chercha à classer les bois selon leur origine. Depuis toujours, le chêne français fut considéré comme un bois de première qualité, mais la gestion et l'état des forêts françaises étaient jusqu'au XIX<sup>ème</sup> siècle insuffisants pour l'approvisionnement des tonneliers. Les prix étaient donc élevés et ils durent chercher d'autres sources d'approvisionnement dans les forêts d'Europe de l'Est (Trieste, Bosnie, Dantzig, Stettin, Odessa...) et d'Amérique. Depuis la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et jusqu'à aujourd'hui, les forêts françaises, restaurées, sont les premières sources d'approvisionnement des tonneliers avec les forêts du centre (Loches, Boulogne...) de l'Allier (Tronçais, Moladière...), des Vosges (Darnay, Lisle...), du Limousin (Rochechouart, Brigueuil...) et de Bourgognes (Bertranges, Côteaux...) [90]. Les tonneliers utilisent également depuis soixante ans le critère morphologique qu'est le grain (Figure 7). Ce paramètre est directement lié à la vitesse de croissance de l'arbre et peut être repéré grâce à la largeur des cernes d'accroissements annuels de celui-ci. Celles-ci sont constituées du bois de printemps, contenant des gros vaisseaux et dont la largeur reste assez stable et du bois d'été, contenant des petits vaisseaux et plus de fibres d'où sa couleur plus foncée et dont la largeur augmente parallèlement à la croissance de l'arbre (Figure 8).

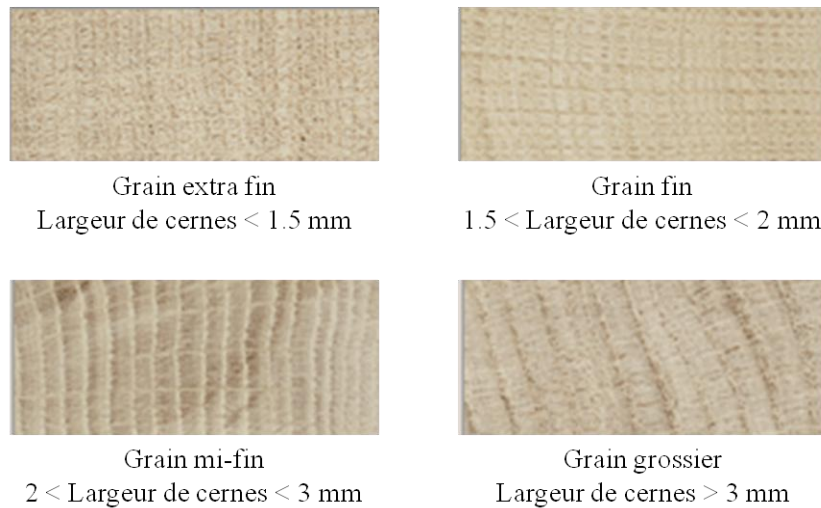


Figure 7 : Exemple de différents grains

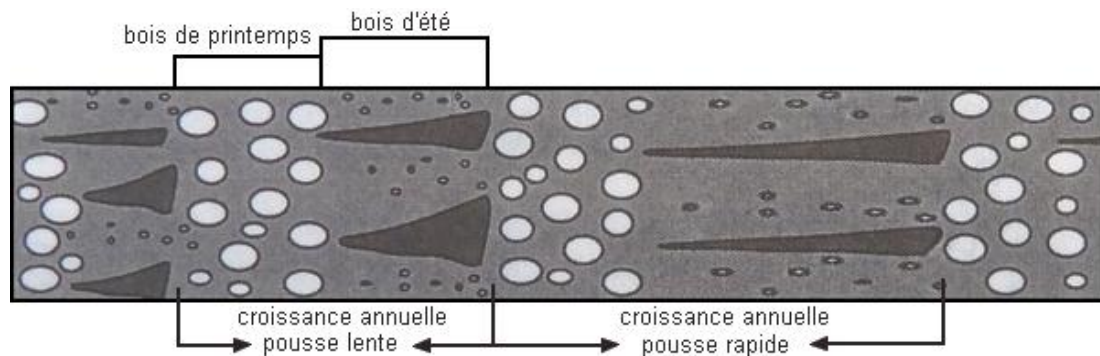


Figure 8 : Schéma des cernes de l'arbre (coupe transversale)

Malgré l'ensemble des critères empiriques utilisés par les tonneliers jusqu'à aujourd'hui, de fortes disparités observées sur un vin élevé dans des barriques provenant d'un même lot sont décrites [109]. Les critères empiriques ayant une forte variabilité, il est apparu nécessaire pour les tonneliers de développer de nouvelles méthodes de classification des bois en fonction de leur composition chimique et non plus de leur caractère morphologique et d'origine.

#### 1.2.4. Nouvelle méthode de sélection

Cette technologie doit être capable de quantifier la composition chimique sur un grand nombre de pièce de bois par jour (jusqu'à 10000) sans destruction du matériel. L'avènement des microprocesseurs dans les années 1970 et du multiplexage (traitement d'une information polychromatique) ont permis de développer la technique du proche infrarouge NIRS (Near Infra Red Spectroscopy) à transformée de Fourier. Cette technique déjà largement utilisée dans les industries alimentaires (céréales, lait...) et de santé (contrôle qualité des médicaments, glycémie...) permet par réflectance de quantifier l'ensemble des liaisons chimiques sur les premiers millimètres du bois. Son principe de fonctionnement sera développé dans le chapitre 1, 4.

## 1.3. Composition chimique du bois de chêne

### 1.3.1. Composition macromoléculaire

La composition macromoléculaire du bois de chêne présente peu de différences avec celle des autres types de bois. Les études [86, 110, 111] ont montré une large dominance de la cellulose (autour de 40%), des hémicelluloses acétylées (entre 20 et 25%) et de la lignine (environ 25%) [71].

La cellulose est une macromolécule formée d'environ 500 à 5000 unités monomères de D-glucose reliées les uns aux autres par des liaisons  $\beta$ -1,4-glycosidiques. Le motif de base de la cellulose est appelé ; motif de cellobiose (Figure 9 A). Les différentes chaînes placées côte à côte sont liées par de nombreuses liaisons hydrogène (Figure 9 B) ce qui donne à ce matériau une très grande rigidité et qui explique qu'elle soit la substance de soutien des cellules des végétaux.

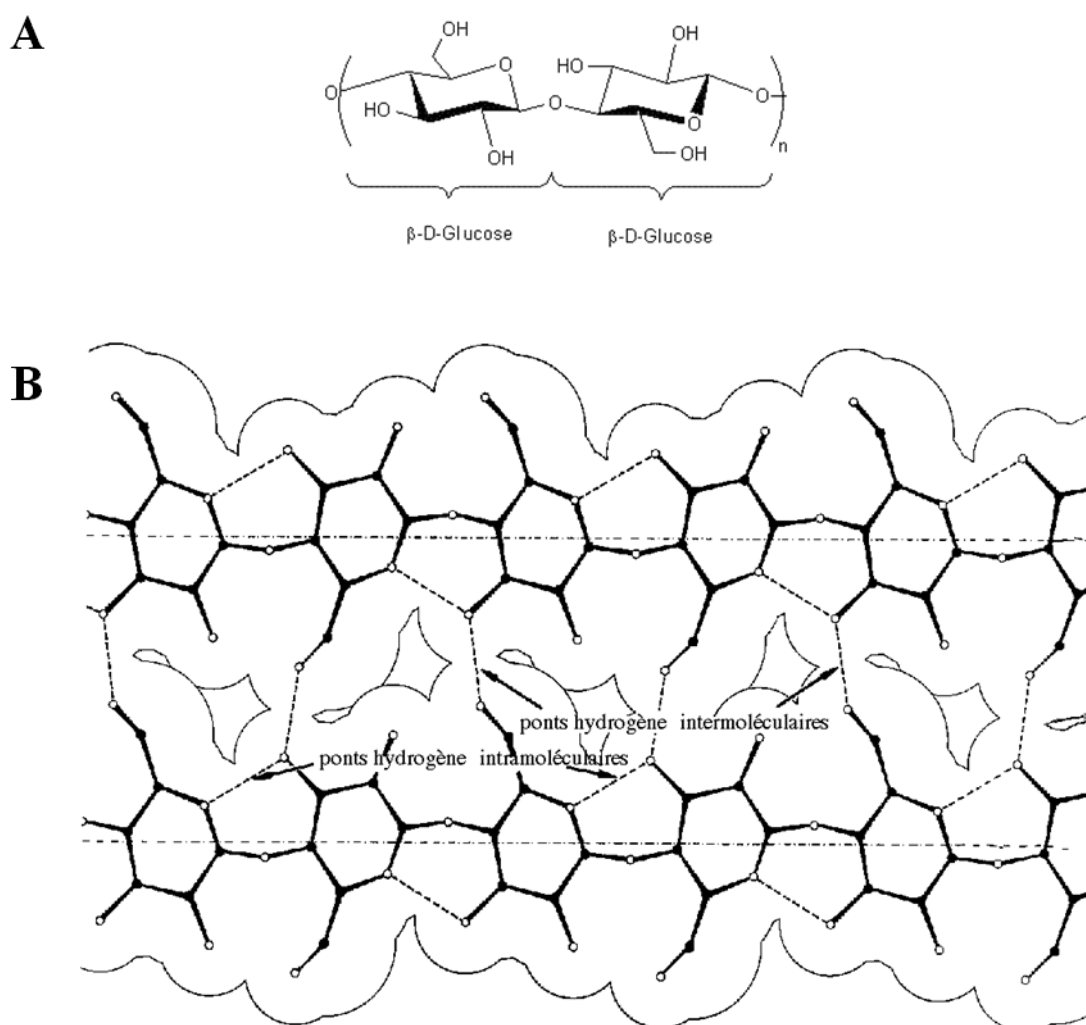


Figure 9 : **A** : Motif de cellobiose. **B** : Schéma de deux macromolécules de cellulose adjacents

Les hémicelluloses sont des polymères plus courts que la cellulose formés à partir de pentoses (oses à cinq atomes de carbone), ou d'hexoses autres que le glucose et qui peuvent être ramifiées (Figure 10). Les hémicelluloses ont des compositions et des structures qui varient considérablement, par exemple, les hémicelluloses de feuillus sont généralement plus riches en pentoses que celles des résineux qui habituellement contiennent davantage d'hexoses.

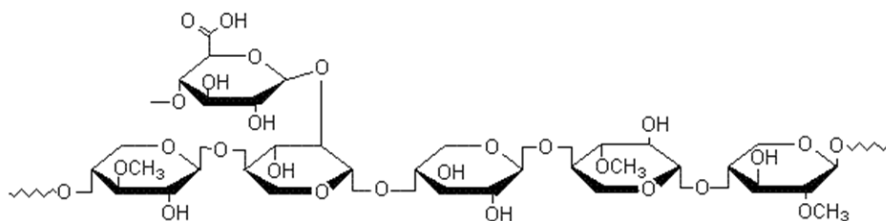


Figure 10 : Exemple de motif d'hémicellulose

La lignine est le troisième constituant de la paroi secondaire des cellules des végétaux. C'est un polymère réticulé (tridimensionnel) dont la structure complexe varie, comme pour les hémicelluloses, en fonction de l'espèce, de l'âge du végétal... Cependant, la lignine se compose d'une structure de base commune dite "phénol propane". Elle est principalement composée d'unités syringyles et gaïacyles (Figure 11)

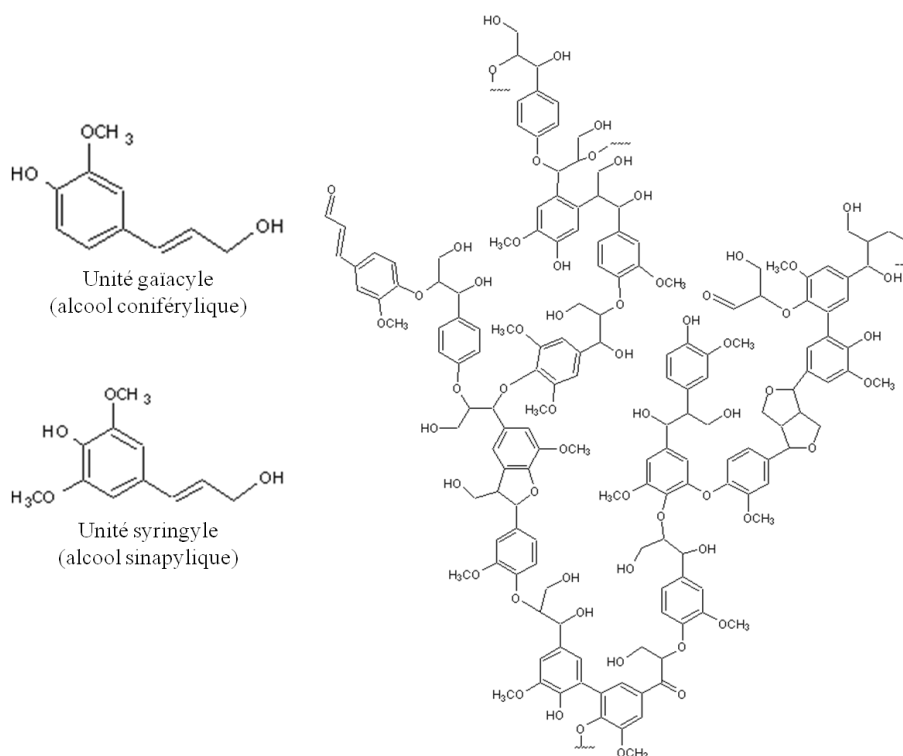


Figure 11 : Structure des unités de la lignine et exemple de motif de sa structure

Ces polymères demeurent insolubles dans leurs états natifs [112, 113]. Le reste, beaucoup plus variable dans sa composition entre les différentes espèces de chêne, est constitué de molécules plus petites comme les ellagitanins.

### 1.3.2. Composition en extractible

Lors de l'élevage des vins en fût de chêne, de nombreuses molécules sont extraites du bois. Celles-ci représentent jusqu'à 10% de la masse du bois sec et 75% d'entre elles peuvent être extraites des premiers millimètres du bois au cours de la première année d'élevage. Deux grandes familles de molécules sont extraites ; les composés non tanniques (les aldéhydes et acides phénols, coumarines, lignanes, polysaccharides, des composés volatiles, des composés aliphatiques...) et les composés tanniques (les tanins hydrolysables et condensés). Leur quantité influence fortement sur les perceptions organoleptiques des vins [114-116].

#### 1.3.2.1. Composés non tanniques

Les composés non tanniques ont un faible poids moléculaire et participent à la fois aux caractéristiques odorantes et gustatives du vin.

Les lignanes, composées de deux alcools phénylpropénoïques ; l'hydroxy-4-méthoxy-3-cinnamique ou alcool coniférylique de structure gaïacyle et de l'hydroxy-4-diméthoxy-3,5-cinnamique ou alcool sinapylique de structure syringyle (Figure 12), sont dégradées par les différentes étapes de fabrication de la barrique (séchage, brûlage...) [117]. Cette dégradation rend une fraction de cette dernière soluble dans des solvants comme l'éthanol [76, 118] et donc dans le vin. Cette fraction contiendra majoritairement les lignanes, des composés phénoliques représentant la plus petite unité constitutive de la lignine (dimères d'unités phényl propanoïde C3-C6). Ces composés dont on connaît aujourd'hui plus de 200 représentants, joueraient un rôle dans les défenses de la plante. Le plus abondant retrouvé dans le bois de chêne est le lyonirésinol (jusqu'à 40 µg/g de bois sec) (Figure 12) [100, 119] qui est utilisé comme marqueur d'élevage en barrique pour les eaux de vie.

Les aldéhydes phénols identifiés pour la première fois dans les années 1950 [120, 121], sont formés principalement de deux composés hydroxy-benzoïques (vanilline et syringaldéhyde) (Figure 12) et de deux composés hydroxy-cinnamiques (coniféraldéhyde et sinapaldéhyde) (Figure 12) [100]. Une méthylation sur les noyaux phénols forme des structures de types gaïacyles alors qu'une diméthoxylation crée une structure de type syringyles. Dans le bois brut, la teneur moyenne de ces composés, bien que variant en fonction des espèces, est en moyenne de 10 µg/g de bois sec mais seule une faible fraction de ces composés passe dans le vin. A l'état natif, ces composés seraient liés par des liaisons esters aux composés pariétaux du bois ou enfermés dans des pores de faibles diamètres [86, 102]. La chauffe de la barrique peut permettre par pyrolyse de la lignine d'augmenter les teneurs dans le bois d'un facteur 12 [76, 122, 123].



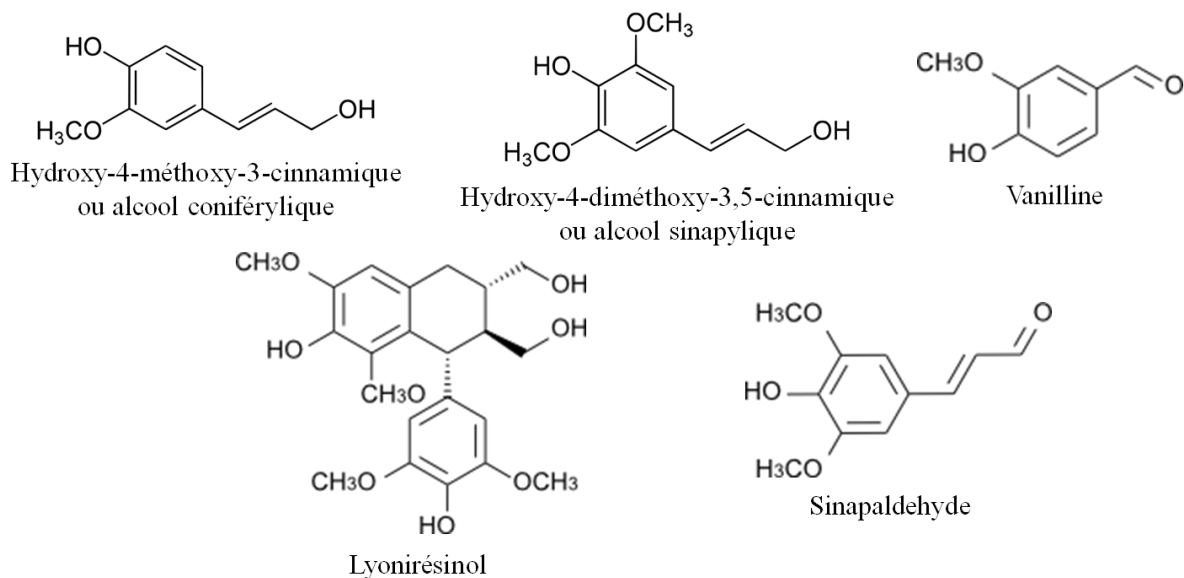


Figure 12 : Structures des principaux aldéhydes phénols

Les acides phénols libres peuvent provenir de la voie de biosynthèse des composés phénoliques (acide ellagique, acide gallique [100, 124, 125]...), de l'oxydation des aldéhydes phénols [126] ou de la dégradation des chaînes polysaccharides liées ou non à la lignine (acide férulique (Figures 13). L'acide férulique et l'acide caféique seraient les précurseurs de la scopolétine (une coumarine) (Figures 13) [76, 96, 100]. Trois autres acides phénols libres sont identifiables dans le bois frais ; l'acide vanillique, syringique, sinapique.

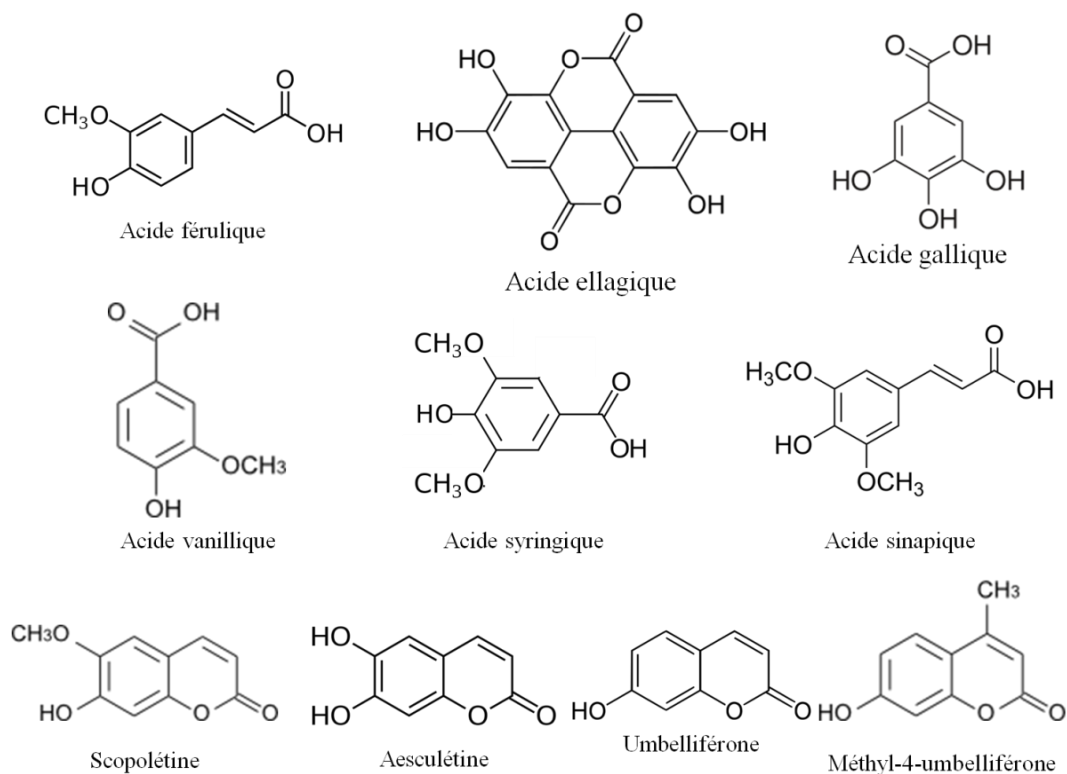


Figure 13 : Structure des principaux acides phénols et coumarines

Les coumarines aglycones du bois de chêne ont été identifiées pour la première fois en 1972 [96]. Ce sont des benzo- $\alpha$ -pyrones substituées dérivant des acides *o*-hydroxycinnamiques qui permettent aux végétaux de se défendre contre des attaques. Le principal représentant de cette famille est la scopolétine qui est utilisée comme marqueur de la conservation des vins au contact avec le bois et dont la concentration dans celui-ci peut aller jusqu'à 100  $\mu\text{g/L}$ . D'autres coumarines ont également été identifiées comme l'aesculétine, l'umbelliférone, ou encore le méthyl-4-umbelliférone (Figure 13). L'augmentation de leur concentration après hydrolyse enzymatique indique la présence de coumarines glycosidiques dans le bois frais [86].

Une partie de l'hémicellulose va pouvoir être extraite par le vin et certainement apporter des caractéristiques organoleptiques comme la rondeur. Mais aujourd'hui, peu d'études ont permis d'apporter des réponses claires sur leurs rôles. Néanmoins, un lignane, appelé lyonirésinol, a été identifié par CPC-Gustatométrie comme ayant une amertume persistante [127]. Lors de dégustation, il a été jugé comme apportant au vin blanc une dureté et une amertume renforcées en final à partir d'un seuil de 1,52 mg/L. Or grâce à une méthode de quantification en LC-FT/MS, la concentration du lyonirésinol dans les vins a généralement été trouvée supérieure à son seuil de perception (jusqu'à 3 mg/L). Son implication directe dans les caractéristiques organoleptiques dans vin est donc justifiée [127].

D'autres composés en quantité moindre vont être extraits du bois par le vin comme des terpènes (quercotriterpénosides, lupéole...) des composés lipidiques (C18:1, C18:2), des minéraux (calcium, potassium...) (Figure 14)... Par exemple, parmi les quatre quercotriterpénosides identifiés à ce jour, le quercotriterpénoside I s'est révélé apporter de la sucrosité au vin blanc et réduire son acidité perçue et son amertume. Une sensation douce et persistante en final a également été perçue lors des dégustations. Par ailleurs, son seuil de détection dans le vin blanc est de 590  $\mu\text{g/L}$  [127]. Le quercotriterpénoside III, lui, est perçu à travers sa capacité à diminuer l'acidité et à augmenter la douceur d'un vin blanc. Mais leurs implications sur les qualités organoleptiques d'un vin restent limitées puisque dans tous les vins analysés à ce jour, leurs concentrations, situées entre quelques dizaines et quelques centaines de microgrammes, sont toujours inférieures à leurs seuils de perception. Néanmoins, leurs rôles ne seraient pas nuls et se feraient ressentir à travers des phénomènes de synergies avec d'autres molécules « sucrées » [127].

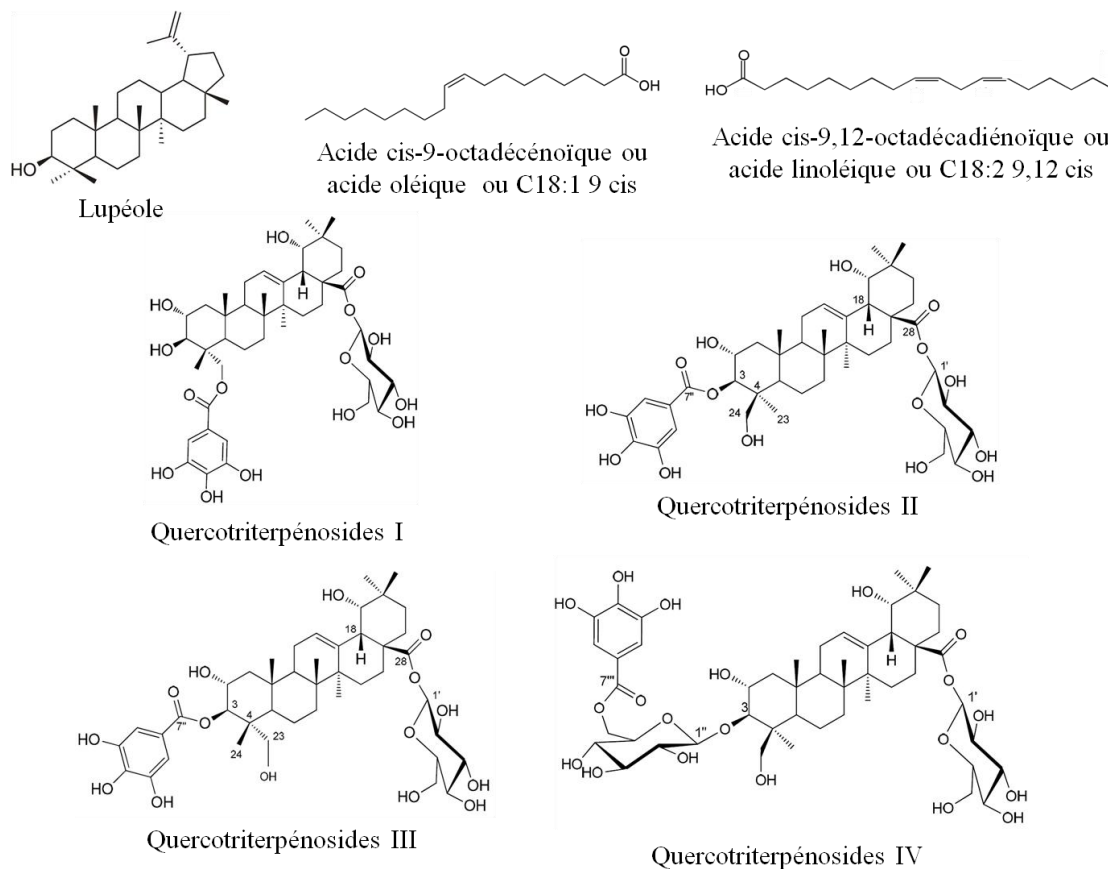


Figure 14 : Structure de terpènes et de lipides C18:1 et C18:2

### 1.3.2.2. Composés tanniques

Contrairement aux tanins condensés de la baie, les tanins du bois sont appelés tanins hydrolysables. Ce terme se réfère à leur capacité à être hydrolysés et à libérer soit de l'acide gallique pour les gallotanins soit de l'acide ellagique pour les ellagitanins [45, 128, 129]. Aujourd'hui, plus de 500 composés polyphénoliques dérivés de l'acide gallique ont été isolés de diverses plantes et bien caractérisés (Figure 15 A et B) [47, 128-130]. Les ellagitanins C-glycosidiques sont généralement majoritaires par rapport aux gallotanins sauf pour *Quercus rubra*. Ils présentent une structure spécifique composée d'une chaîne glucose ouverte estérifiée en position 4 et 6 par une unité hexahydroxydiphényle (HHDP) et une unité nonahydroxyterphényle (NHTP) estérifiées en position 2, 3, et 5 avec une liaison C-glycosidique entre le carbone du glucose et la position 2 de l'unité trihydroxyphényle (Figure 15 A) [71, 131]. Les ellagitanins représentent une importante part des composés extractibles du cœur de bois puisqu'ils peuvent y être retrouvés à des concentrations comprises entre 4 et plus de 120 mg/g de bois sec [132]. De récentes études montrent leurs caractéristiques amère et astringente qui pourraient jouer un rôle sur les paramètres organoleptiques des vins (cf chapitre 1, 3.5.) [26-28].

La vescalagine et son épimère la castalagine que l'on retrouve respectivement à des concentrations moyennes de 8,71 et 13,77 mg/g de bois sec français sont les premiers ellagitanins C-glycosidiques à avoir été isolés et caractérisés il y a 30 ans à partir de *Castanea* (châtaignier) et *Quercus* (chêne) (Figure 15 A) [133-135]. Six autres ellagitanins ont été plus tard isolés, les monomères glycosilés par un lyxose pour la grandinine (2,97 mg/g de bois sec français) ou par un xylose pour la Roburine E (3,19 mg/g de bois sec français) et les dimères non glycosilés, les roburine A et D (respectivement à 2,47 et 3,74 mg/g de bois sec français) ou glycosilés avec les roburines B et C (respectivement à 2,76 et 2,31 mg/g de bois sec français) (Figure 15 A) [132, 136, 137]. Vescalagine et castalagine représentent 40 à 60% des ellagitanins dans *Quercus petraea* et *robur* [138-140] mais cette composition peut être très variable d'une espèce de chêne à une autre. Ainsi, *Quercus Oocarpa* ne contient que les monomères d'ellagitanins, *Quercus stellata* et *alba* ne présentent que la vescalagine, castalagine et le dimère de vescalagine et *Quercus farnetto* contient une majorité d'ellagitanins pentosylés (jusqu'à 55%) et une concentration en vescalagine supérieure à celle de la castalagine contrairement à *Quercus petraea* et *robur* [86]. Ces molécules sont solubles dans les solutions hydroalcooliques, c'est pourquoi elles sont progressivement extraites par le vin durant l'élevage en barrique.

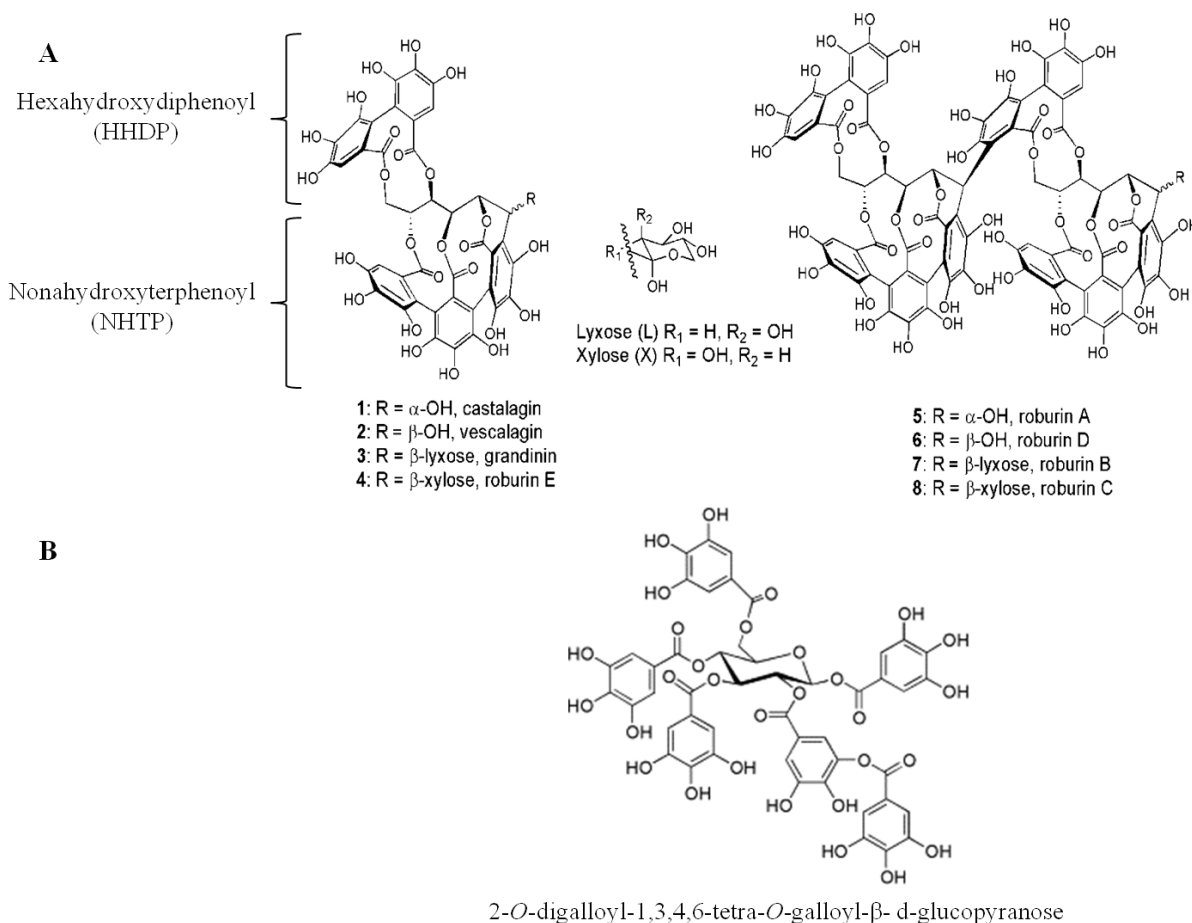


Figure 15 : **A** : Structure des 8 ellagitanins, **B** : Structure d'un gallotanin

## 1.4. Biosynthèse et localisation des ellagitanins

Les ellagitanins sont synthétisés en deux grandes étapes (Figure 16). Tout d'abord, un D-glucopyranose subit une galloylation enzymatique par de l'acide gallique libre, ce qui aboutit à la formation du 1-*O*-galloyl-β-D-glucopyranose. Puis, par transgalloylation enzymatique successive ont aboutit à la formation successive des 1,6-*O*-digalloyl-β-D-glucopyranose, 1,2,6-*O*-trigalloyl-β-D-glucopyranose, 1,2,3,6-*O*-tetragalloyl-β-D-glucopyranose et finalement au 1,2,3,4,6-*O*-pentagalloyl-β-D-glucopyranose. Cette dernière molécule est considérée comme le précurseur des gallotanins et des ellagitanins [71, 129, 141, 142]. Grâce à une galloyltransférase qui estérifie l'un des phénols des groupements galloyles par l'acide gallique libre, on obtient le précurseur des gallotanins. Par contre, par déhydrogénation (oxydative) et couplage entre deux unités galloyles proches, le 1,2,3,4,6-*O*-pentagalloyl-β-D-glucopyranose conduit à la formation de la tellimagrandine II, premier de tous les ellagitanins (Figure 16). Récemment, l'enzyme responsable du couplage oxydatif qui aboutit à la formation de la liaison carbone-carbone biarylique entre deux unités galloyles voisines [129], a été isolée [71, 143].

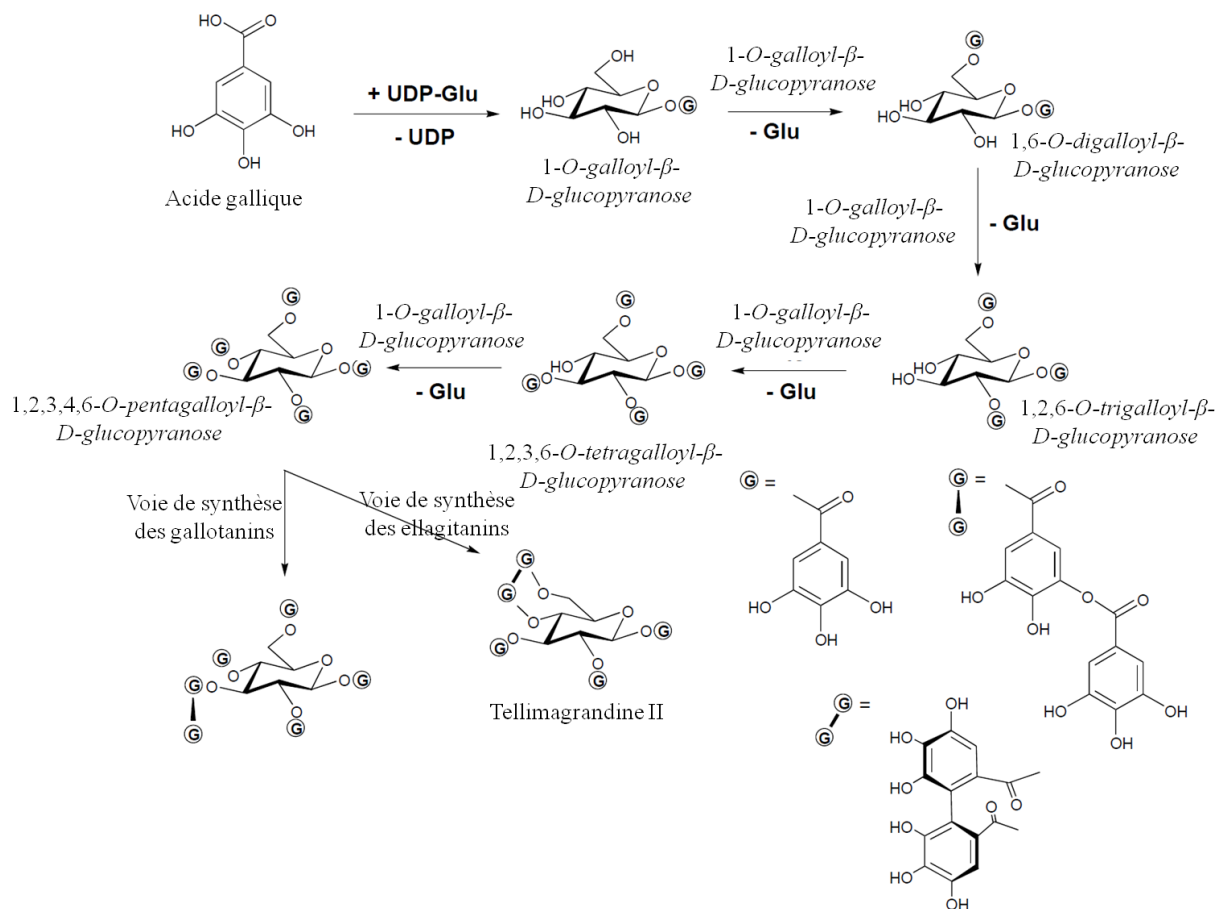


Figure 16 : Voies de synthèse des précurseurs des gallotanins et des ellagitanins

La vescalagine et la castalagine sont formées à partir de la tellimagrandine II par formation d'une nouvelle liaison biarylique entre deux unités galloyl voisines pour conduire à la casuarictine et à la potentilline, qui par hydrolyse de l'unité galloyl en C1 conduit aux pédonculagines P1 et P2 (Figure 17). L'ouverture de leur cycle D-glucopyranose conduit à la formation de la 5-désgalloylstachyurine et à celle de la casuariine. La galloylation de l'alcool secondaire, formée par ouverture du cycle D-glucopyranose, mène à la formation de la stachyurine et de la casuarinine qui en formant une nouvelle liaison biarylique entre l'unité galloyl libre et l'HHDP inférieur permet la formation de la vescalagine et la castalagine (Figure 17) [144]. Une telle évolution a été observée dans les feuilles de différents chênes [142]. En effet, des feuilles récoltées en avril comportaient majoritairement de la tellimagrandine II, alors que celles récoltées en mai comportaient majoritairement les pédonculagines et enfin celles récoltées entre juillet et septembre comportaient majoritairement de la casuarinine, précurseur direct de la castalagine [71, 145].

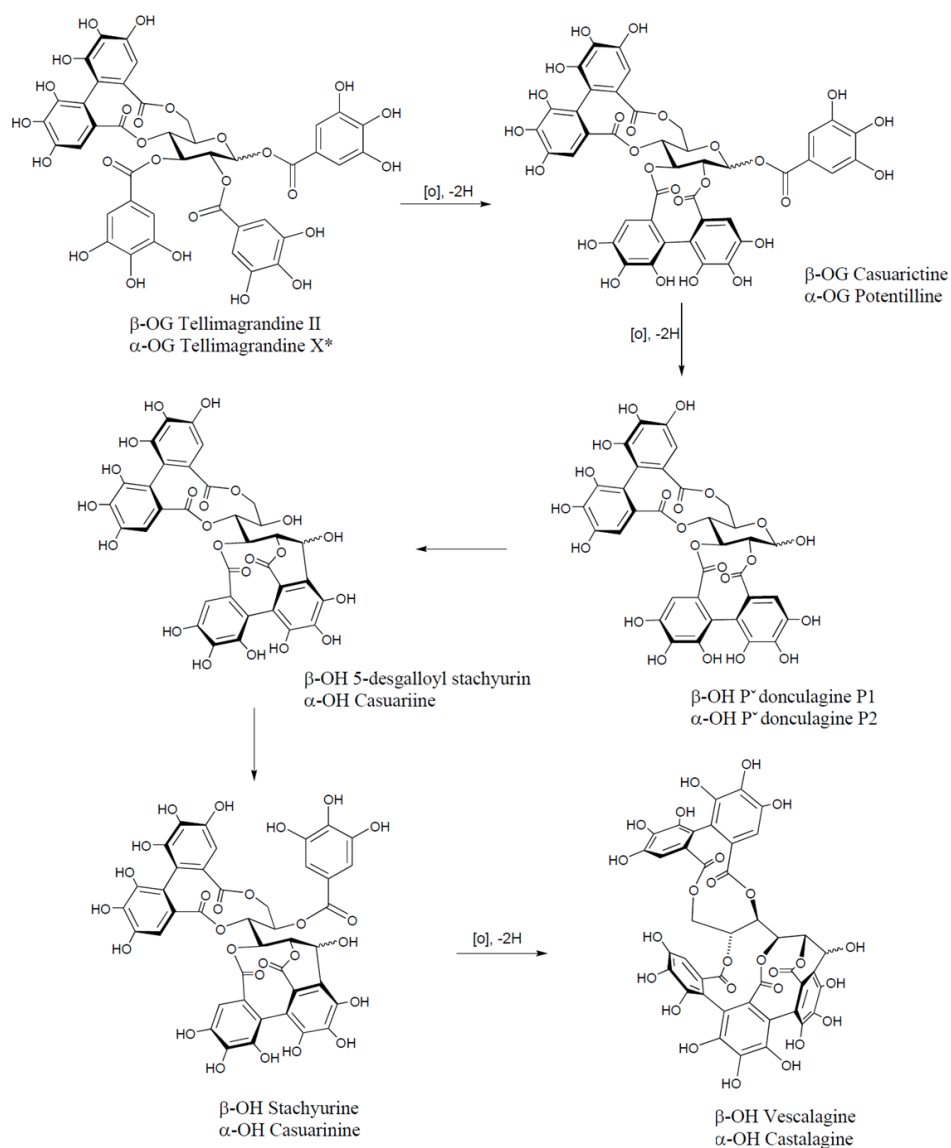


Figure 17 : Synthèse de la vescalagine et de la castalagine à partir de tellimagrandines (\* ; composé non isolé à ce jour)

Les ellagitanins C-glycosidiques sont très présents chez les angiospermes dicotylédones dont fait partie le genre *Quercus*. Ce sont des métabolites secondaires principalement localisés dans le bois de cœur, partie interne du bois qui ne comporte plus de cellules vivantes. Les ellagitanins sont en quantité croissante du cœur de l'arbre vers les zones périphériques. Ils sont retrouvés dans les vacuoles des parenchymes et les rayons ligneux [146]. Par opposition, la partie vivante du bois, l'aubier n'en contient que de très faible quantité. Le niveau des ellagitanins dans le bois dépend de nombreux facteurs ; l'espèce, l'âge, origine géographique, les pratiques sylvicoles, la position de la pièce de bois par rapport au rayon de la grume et à la hauteur dans le tronc [138, 139, 147, 148], mais aussi le processus de fabrication de la barrique (le type, la durée et la puissance de la chauffe) [139, 149]. Leurs concentrations sont généralement situées entre 20 et 80 mg/g de bois mais il existe une variabilité dans les teneurs en ellagitanins en fonction de l'espèce. Le bois de chêne pédonculé est généralement plus riche en ellagitanins que celui du chêne sessile (48,4 mg/g pour le chêne pédonculé ; 34,4 mg/g pour le chêne sessile), mais une distinction claire entre les deux espèces ne peut être établie [132, 150, 151]. En effet, la variabilité inter-individuelle est supérieure à la variabilité inter-espèce entre les chênes *Quercus robur* et *Quercus petraea* (cf ci-dessous).

### **1.5. Sources de variabilité des tanins hydrolysables**

Comme cité plus haut, les tonneliers utilisent plusieurs critères de sélection des bois tels que l'espèce, l'origine géographique et le grain. Ces critères sont basés sur une observation centenaire de l'apport du bois au vin. Néanmoins, pour un unique vin élevé dans un même lot de barrique, une grande hétérogénéité organoleptique due à la futaille est observée. Aujourd'hui, plusieurs études ont montré que ces différences étaient dues à la faible pertinence des critères empiriques due à la forte variabilité de la composition chimique du bois.

En effet, *Quercus robur* et *petraea* restent deux espèces avec un patrimoine génétique différent. D'un point de vue morphologique, ils sont très difficiles à distinguer voir plus compliqués encore en cas de présence d'hybrides. Les critères les plus sûrs sont le nombre de lignes de gros vaisseaux du bois de printemps (chêne pédonculé > 3 > chêne sessile) (Figure 18), la proportion du bois de printemps dans la cerne (chêne pédonculé > 25% > chêne sessile) et la forme plus circulaire et non déformée des cernes pour le chêne sessile que pour le chêne pédonculé [152-154].

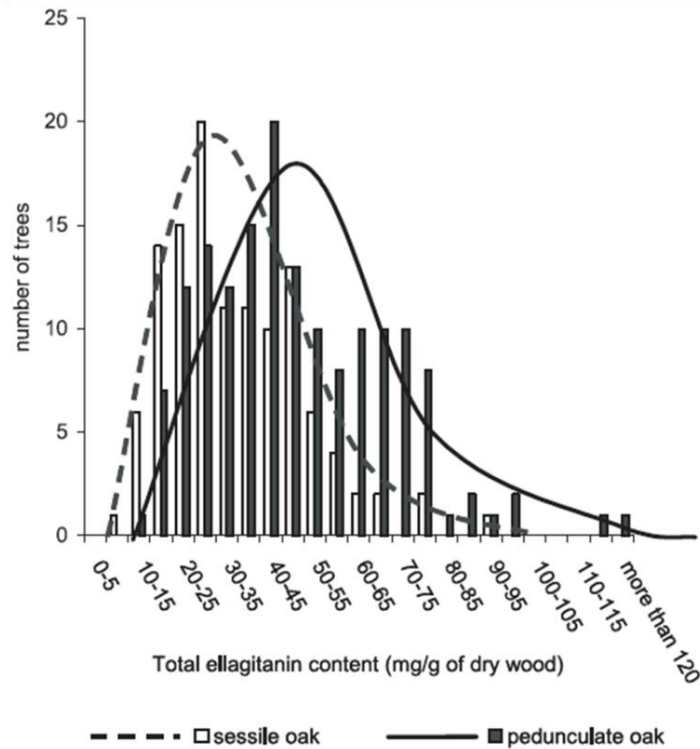


Figure 18 : Concentration en ellagitanins totaux de *Quercus robur* et *petraea* (Prida *et al.*, 2006)

Au niveau moléculaire, le chêne pédonculé est fréquemment considéré comme plus riche en tanins avec une moyenne de concentration de  $48,36 \pm 20,95$  mg/g de chêne français sec que son cousin le chêne rouvre ( $34,41 \pm 15,62$  mg/g de chêne français sec) [132]. De plus, de nouvelles études montrent que les différences de concentrations en ellagitanins à l'intérieur d'une même espèce sont plus grandes que les différences entre les deux espèces (Figure 18) [132]. Il en résulte une large bande où les concentrations des 2 espèces se chevauchent. Malgré tout, la courbe de Gauss caractérisant les concentrations d'ellagitanins du bois montrent un décalage vers des valeurs plus élevées pour le chêne pédonculé. Il peut être déduit que cette différence est due à la variabilité du patrimoine génétique des deux espèces [132]. Mais la forte variabilité interespèce est due à d'autres facteurs exogènes. Donc, la conclusion que ce critère est peu pertinent pour sélectionner les bois en fonction de leur contenu polyphénolique peut être tirée. D'ailleurs aujourd'hui, la plupart des tonneliers ne font pas la différence entre les deux espèces lors de leur sélection des bois.

Le critère espèce étant peu fiable pour déterminer la composition chimique du bois, les tonneliers ont cherché à en utiliser de nouveaux comme la provenance géographique et le grain. Ainsi, les bois provenant du centre de la France sont dits à grain fin avec des teneurs en composés aromatiques élevées et en composés phénoliques faibles. Les bois provenant des Vosges sont considérés comme des bois à grain fin avec des teneurs en composés aromatiques similaires à ceux du centre, mais avec des teneurs en composés phénoliques également riches.



Les forêts du Limousin contiennent elles des bois à grain grossier avec des teneurs en composés phénolique comparable à celui des Vosges mais avec des teneurs en composés aromatiques faibles [90]. En résumé, les forêts du Limousin semblent se distinguer plus des autres car il s'agit d'un peuplement uniquement composé de chêne pédonculé, sélectionnés par les tonneliers de la région pour les alcools et eaux de vie [79]. Mais de récentes études tendent à démontrer que les peuplements au sein d'une même forêt peuvent se révéler fortement disparate et donc rendre le critère « origine géographique » moins pertinent (Figure 19). En effet, différents groupes d'arbres dans une même forêt peuvent avoir de fortes disparités dans leur contenu en polyphénols alors qu'ils seront plus proches de groupes prélevés dans d'autres forêts.

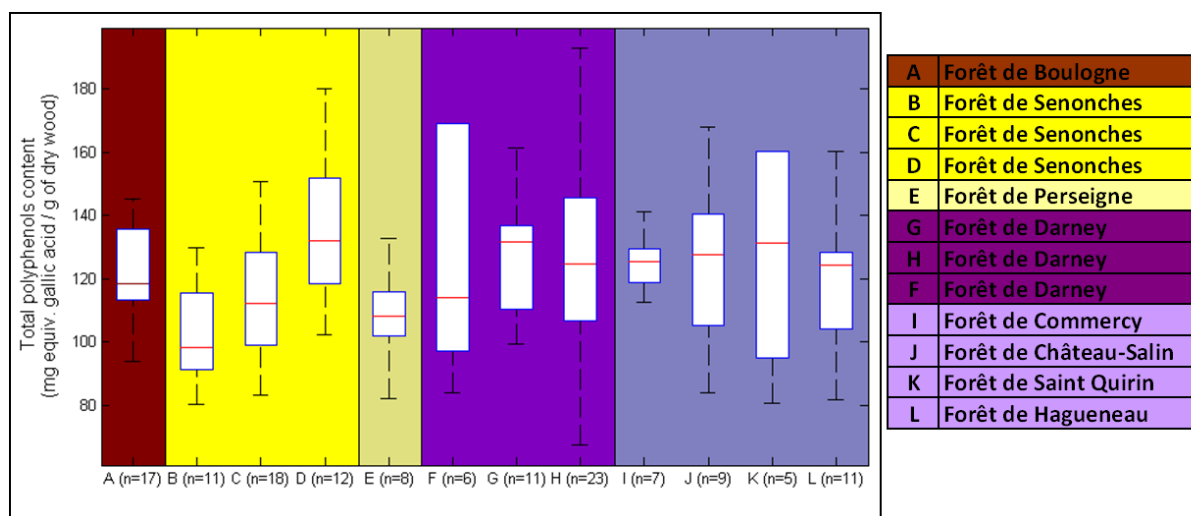


Figure 19 : Variabilité de la teneur en polyphénols des chênes en fonction de leur origine géographique

Le critère grain utilisé plus récemment, donne une meilleure corrélation avec la teneur en polyphénols des bois (Figure 20). En effet, plus le grain du bois est élevé, plus celui-ci sera riche en polyphénols. Or, ce critère dépend de la vitesse de croissance de l'arbre. Les facteurs exogènes tels que le sol, le climat, le relief, l'orientation des arbres et les pratiques sylvicoles vont donc influencer sur la composition chimique des arbres. Il a été montré par exemple que le pH du sol, sa richesse en calcaire et en carbonate actif ainsi que sa structure générale (profondeur...) avaient une influence sur la croissance des arbres. Le climat, par une augmentation de la pluviométrie et/ou une diminution du nombre de jours ou la température est inférieure à 10°C, peut augmenter la vitesse de croissance de l'arbre et donc son grain et son contenu en polyphénols [90]. Les pratiques sylvicoles, par le contrôle de la densité des arbres dans une forêt, influencera fortement leur croissance. Plus la densité sera faible, plus les arbres croîtront rapidement. Le grain permet donc d'homogénéiser le contenu polyphénolique des bois, mais une variabilité rémanente reste encore présente pour pouvoir sélectionner des bois ayant une composition en polyphénols proche [1, 132, 155].

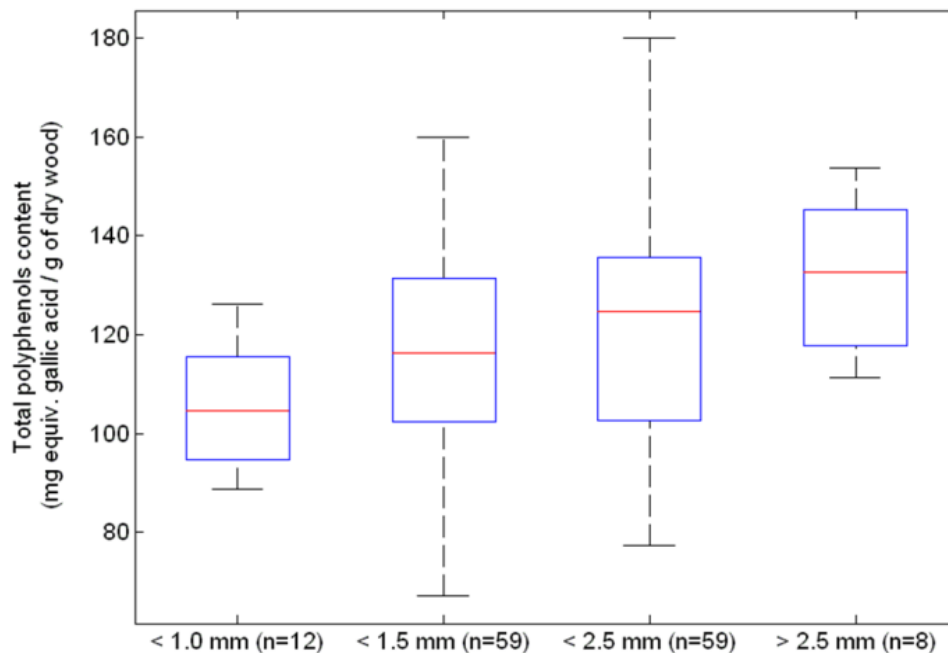


Figure 20 : Concentration en polyphénols du chêne en fonction de son grain

De plus, de nouvelles études montrent que la teneur en ellagitanins au sein d'un même arbre varie fortement en fonction de l'âge du bois (Figure 21). En effet, le bois de cœur peut être jusqu'à 10 fois plus pauvre en ellagitanins que le bois jeune, de périphérie [1]. C'est pour cette raison que les nouvelles méthodes de classification des bois doivent être effectuées sur chaque pièce de bois rentrant dans la composition de la barrique.

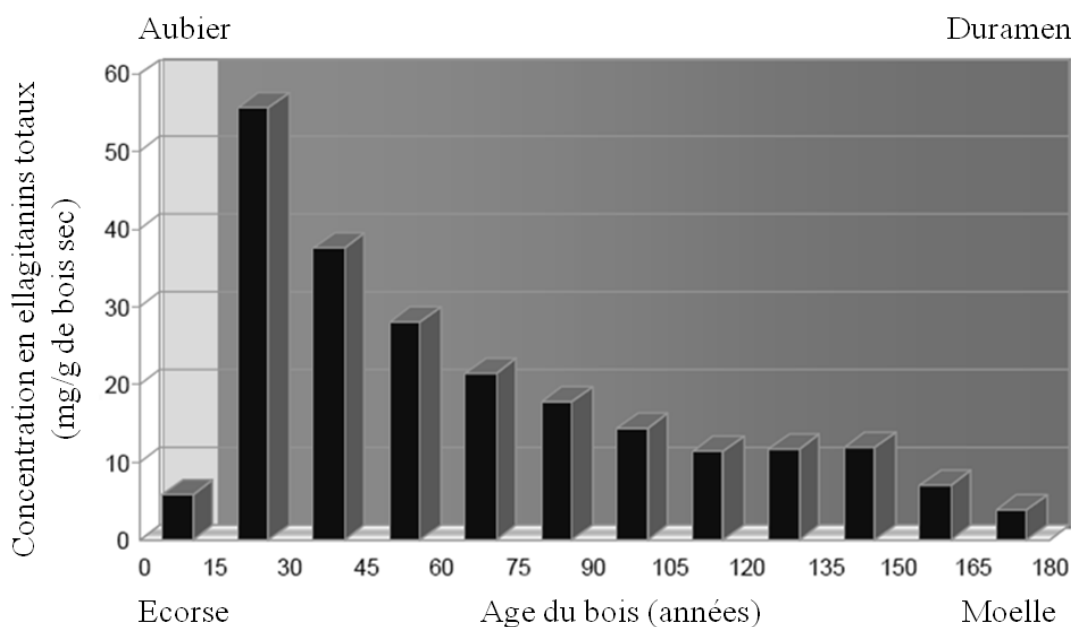


Figure 21 : Concentration en ellagitanins en fonction de l'âge du bois dans un tronc de bois de chêne (Masson, G., 1996 [1])

## 1.6. Evolution des ellagitanins au cours de l'élevage

Au cours de l'élevage des vins en fût de chêne, la concentration en ellagitanins du vin augmente lentement jusqu'à un maximum. Puis une diminution plus ou moins rapide se produit. Cette cinétique est le fruit du rapport qu'il existe entre l'extraction des ellagitanins du bois par le vin par ce dernier et les réactions de dégradation (hydrolyse, oxydation...) ou de complexation avec d'autres molécules présentes dans ce milieu comme les flavonoïdes (tanins condensés et anthocyanes) [116, 156]. C'est pourquoi ils ne sont pas toujours retrouvés dans les vins. En effet, leurs quantités retrouvées dans un vin après 12 mois d'élevage en fût de chêne et dans une solution modèle subissant le même traitement seront très différentes et respectivement de 5 mg/l et 46,5 mg/l [157, 158].

### 1.6.1. Addition avec les composés flavonoïdes

Dans les parties de l'arbre (écorces et feuilles) contenant à la fois des ellagitanins et des unités flavan-3-ols à l'état libre, des tanins complexes ou flavano-ellagitanins [131] ont été trouvés [159]. Ces tanins ont la capacité de répondre positivement à la fois au test colorimétrique caractéristique des tanins hydrolysables et également à celui des tanins condensés, d'où leur nom de tanins complexes (Figure 22). Ces tanins se composent d'une unité ellagitanin connectée par l'intermédiaire de son carbone 1 situé sur le squelette glycosidique central au carbone 6 ou 8 du cycle A d'une unité flavan-3-ol [71, 159-161]. Le nombre de molécules apparenté à la famille des flavonoïdes étant important, un grand nombre de tanins complexes doivent pouvoir exister. Par exemple, dans les écorces de *Quercus petraea*, *acutissima* et *miyagii* les acutissimines A et B qui se composent d'une unité de type vescalagine connectée à une catéchine ont été trouvées [162-165].

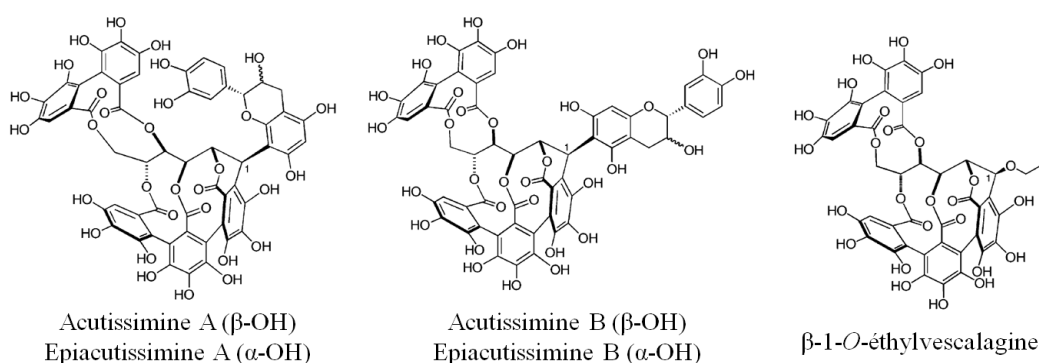


Figure 22 : Structures de tanins complexes

Récemment, plusieurs études ont été menées pour déterminer les processus de synthèse de ces tanins complexes [45, 71]. Il apparaît que la vescalagine, avec un

encombrement stérique moins important, pouvait subir une déshydroxylation de son alcool benzylique situé sur le carbone 1 du glucose ouvert pour donner un intermédiaire extrêmement réactif : carbocation. Ce dernier subira par la suite une attaque d'unité nucléophile pour conduire à la formation d'un tanin complexe stable.

Le vin, étant une solution acide (pH entre 3.2 et 4), favorise cette déshydroxylation. Or ce dernier contient également un grand nombre de molécules nucléophiles comme les unités flavan-3-ols et les tanins condensés mais aussi l'éthanol, les anthocyanes ou les procyanidines. Récemment, des tanins complexes du type cité précédemment avec une unité flavan-3-ol de type catéchine (acutissimine A et B) et épicatechine (épiacutissimine A et B) [71, 166] ou un groupement éthanol (éthylvescalagine) (Figure 22) ou une anthocyane (Figure 23) [71, 167, 168] ont été dosés dans le vin. Ces nouvelles molécules formées auront un impact sur les qualités organoleptiques du vin puisque, par exemple, la condensation de la malvidine-3-*O*-glucoside avec une vescalagine forme un nouveau produit avec un effet bathochrome et hyperchrome des caractéristiques initiales de la malvidine.

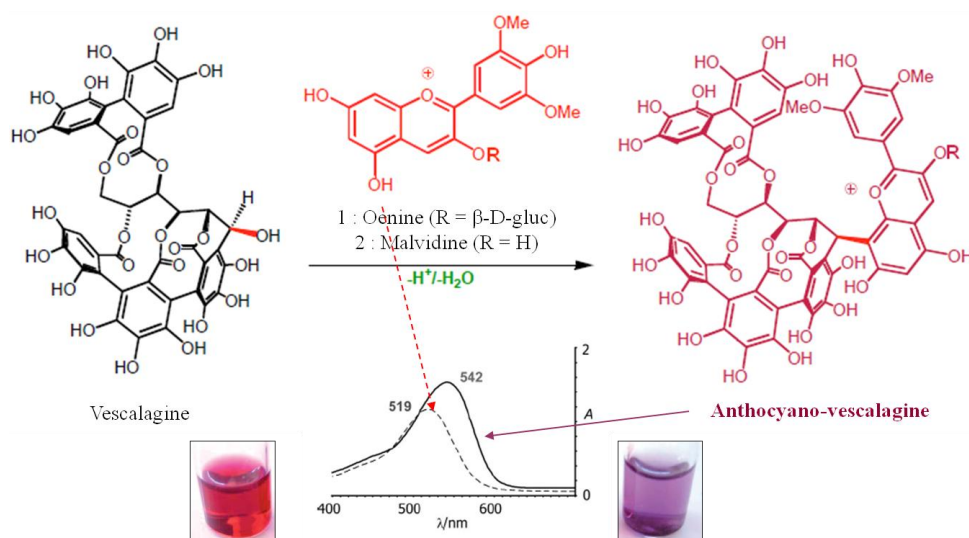


Figure 23 : Réaction entre la malvidine et la vescalagine et illustration des conséquences sur la couleur (Saucier, C., 2006 [167])

### 1.6.2. Réactivité avec l'oxygène

En solution modèle (éthanol 12%, 5 g/l d'acide tartrique, pH de 3.2) la disparition des ellagitanins est directement liée à la concentration en oxygène du milieu. Cette dégradation va être assez lente puisqu'au contact de l'air, 80% de la vescalagine (ellagitanin le plus réactif d'un point de vu général) sera dégradée en 200 jours [169]. Cette dégradation est accélérée par la présence de fer. Lorsque les ellagitanins sont additionnés au vin, leur vitesse de dégradation est réduite ce qui suggère une plus forte oxydabilité de certains composés du vin [169]. Néanmoins, l'ajout d'ellagitanins entraîne une augmentation de la consommation

d'oxygène du vin, ils contribuent donc à la protection de certains composés (tanins, anthocyanes...) en diminuant sensiblement la concentration en oxygène du milieu. La spectrométrie de masse a permis de détecter ces produits d'oxydation qui se composent d'hémiacétals et d'acétals (Figure 24) [170]. En effet, l'oxydation des ellagitanins aboutit à la formation de quinones qui subiront l'attaque nucléophile de l'éthanol puis éventuellement après déshydratation, une nouvelle attaque de l'éthanol.

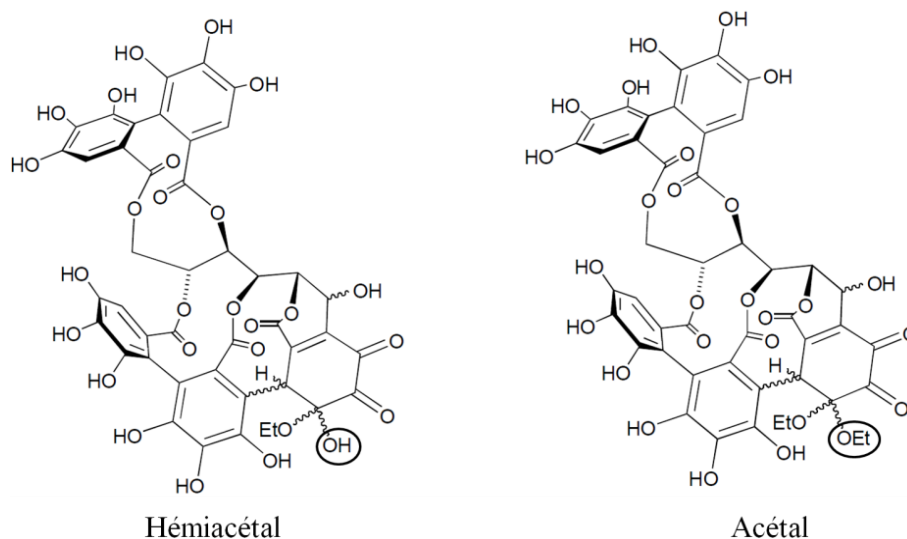


Figure 24 : Structures de la vescalagine et de la castalagine après oxydation

### 1.6.3. Dégradation par hydrolyse

Au cours de l'élevage des vins, la concentration en acide ellagique ne cesse d'augmenter. Cette augmentation peut être corrélée à l'hydrolyse des ellagitanins qui, par clivage puis réorganisation spontanée de groupement 4,6-hexahydroxydiphényle, libère un acide ellagique et de la vescaline dans le cas de la vescalagine et de la castaline dans le cas de la castalagine (Figure 25). Une des méthodes de dosage des ellagitanins consiste d'ailleurs à provoquer cette hydrolyse en les plaçant en milieu acide et à chaud [171].

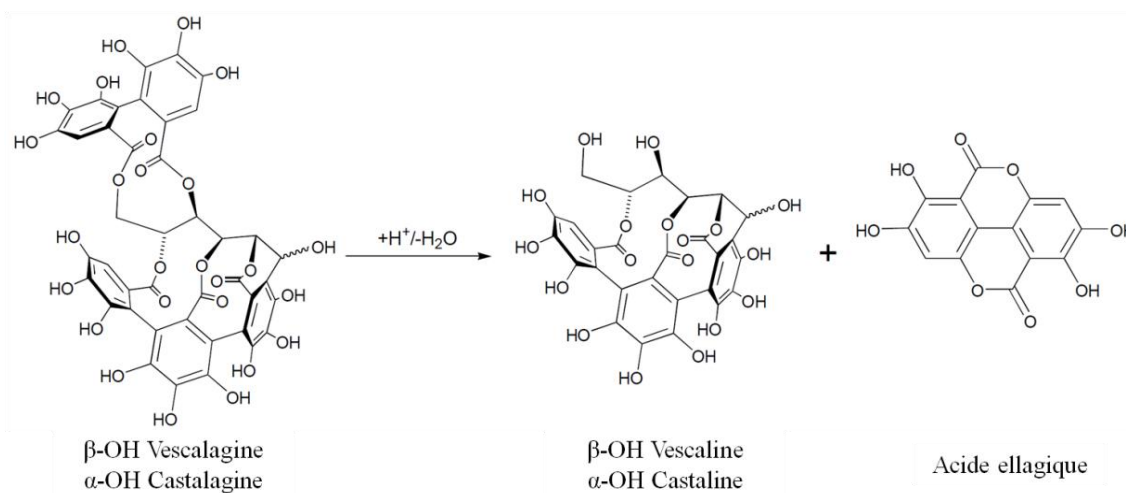


Figure 25 : Hydrolyse de la vescalagine et de la castalagine

## 2. Les polyphénols du raisin et du vin

Le raisin est une source riche en polyphénols. Ces derniers sont une classe de molécules très riche en composés caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques. Aujourd'hui, plus de 8000 structures sont connues. Cette famille de métabolites secondaires est la plus répandue parmi les végétaux [172]. Cette diversité rend leur classification malaisée ce qui explique qu'elle varie selon les publications. Certains auteurs classent les polyphénols en 9 familles en se basant sur le squelette carboné des molécules (C6-C1, C6-C3, C6-C4, C6-C1-C6, C6-C2-C6, C6-C3-C6) (Figure 26) [173] alors que d'autres utilisent seulement 4 familles (les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques, les stilbènes et les flavonoïdes) [174].

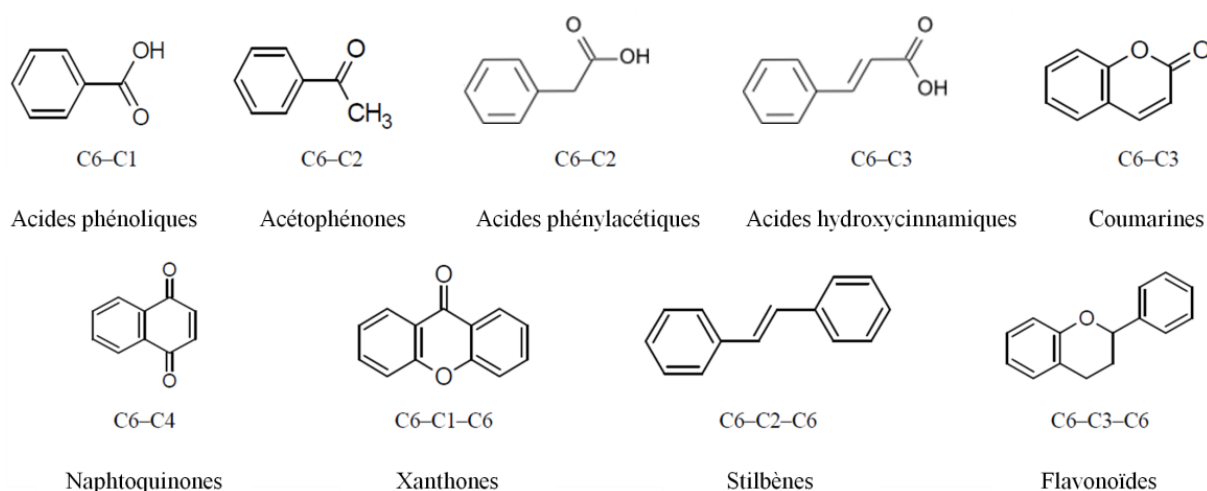


Figure 26 : Classification des polyphénols en fonction de leur squelette carboné

Dans le raisin et le vin, les polyphénols sont en général classés en flavonoïdes et non-flavonoïdes (Figure 27). Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure du type C6-C3-C6, soit deux cycles aromatiques reliés par trois carbones. Ils sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Depuis leurs découvertes par Albert Szent-Györgyi en 1936, ce qui lui a valu le prix Nobel de physiologie ou médecine en 1937, plus de 6000 flavonoïdes ont été décrits chez les plantes. Dans le raisin et le vin, ce sont principalement des flavones, flavonols, flavan-3-ol et des anthocyanes. Les composés non flavonoïdes principaux retrouvés dans le raisin et le vin sont les tanins, les acides phénols et les stilbènes (Figure 26).

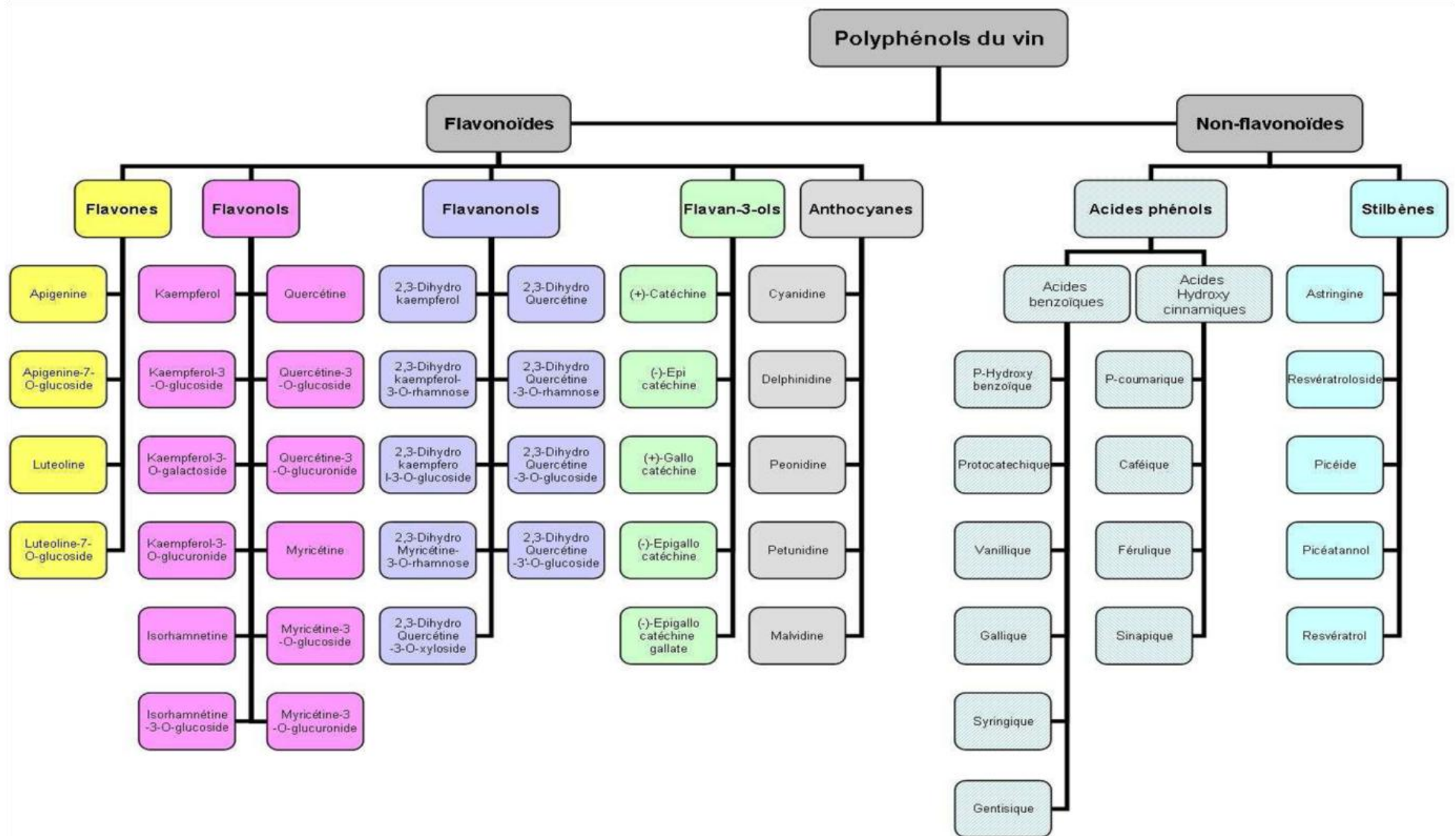


Figure 27 : Classification selon le caractère flavonoïde ou non des polyphénols du vin



Ces composés (Figure 28) vont être extraits du raisin au cours de la vinification puis subir une évolution au cours de l'élevage des vins [175] ce qui va moduler leurs effets sur les caractéristiques organoleptiques des vins rouges (cf chapitre 1, 3.) [12, 176, 177].

	Vins rouges			Vins blancs		
	Min.	Max.	Moy.	Min.	Max.	Moy.
<b>Acides phénols</b>						
<b>Série benzoïque</b>						
Acide gallique	2	130	95	1	18	7
Acide protocatéchique	0,2	20	12			
Acide p-hydroxybenzoïque	0,2	15	5			
Acide vanillique	0,3	10	4			
Acide syringique	1,3	15	8			
Acide synapique	0,3	2	1			
<b>Série cinnamique</b>						
Acide hydroxycinnamique	3	26	10	0,4	8	4
Acide caféique	0,4	15	6			
Acide p.coumarique	7	200	60	1	225	50
Acide férulique						
Acide caféoyltartrique	7	200	60	1	225	50
Acide p-coumaroyltartrique	2	20	15	0,2	70	15
Acide 2-S-gluthionylcaféoyltartrique				5	50	20
<b>Divers</b>						
Tyrosol	1,7	80	25			
Tryptophol	0,9	18	8			
Tryptophol	0,6	10	1,5	nd	1,1	0,04
Trans-resvératrol	0,2	3	0,7	0,011	0,221	0,056
Cis-resvératrol	1	4	1,5	0,02	0,45	0,16
Trans-picéide	0,3	2	0,3	0,025	0,45	0,12
<b>Flavonoïdes</b>						
<b>Anthocyanes</b>						
3-glucoside de delphinidol	20	500	300			
3-glucoside de cyanidol	2	70		0		
3-glucoside de pétonidol	0,4	30		0		
3-glucoside de pétunidol	4	60		0		
3-glucoside de malvidol	24	240		0		
<b>Flavonols</b>	10	80		Traces		
3-glucoside de myricétol	2	6				
3-glucoside de quercétol	3	30				
Myricétol	2	20				
Quercétol	3	20				
Rutine	2	35				
<b>Flavanols</b>						
Catéchine	8	400	190	1	46	35
Epicatéchine	6	160	80	0,1	60	20
Procyanidol B1	25	200	80	0,1	55	6
Procyanidol B2	2	152	40	0,1	11	4
Procyanidol B3	1	55	17	0,02	3	2
Procyanidol B4	5	250	50	0,01	8	1,5
Procyanidol A2	1	12	6	0,1	1	0,3
Procyanidol B1-3-O-gallate	0,5	6		0,02	0,1	
Procyanidol B2-3-O-gallate	1	7		0,04	1	
Procyanidol B2-3'-O-gallate	0,5	3		0,02	0,1	
Procyanidol C1	7	50		0,1	7	
Procyanidol C2	7	66		0,1	2	

Figure 28 : Teneur en mg/L des principaux composés phénoliques du vin (Cabanis J. C., 1998)  
Min : teneur minimale, Max : teneur maximale, Moy : teneur moyenne

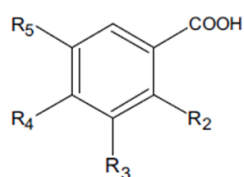


## 2.1. Les composés non flavonoïdes

Les composés non flavonoïdes du raisin et du vin peuvent être divisés en deux sous classes représentées d'une part par les acides phénols, principalement composés des dérivés de l'acide hydroxycinnamique et benzoïque et qui représentent entre 100 et 200 mg/L dans le vin rouge et d'autre part, par les stilbènes dont les quantités dans le vin rouge se situent entre 20 et 80 mg/L [178].

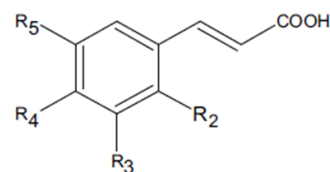
Les acides hydroxycinnamiques (Figure 29) se localisent principalement dans la pulpe et la pellicule du raisin principalement sous la forme estérifiée par l'acide tartrique [179] mais aussi à des acides organiques, des sucres, des polyamines et des polysaccharides [180]. Ils présentent un squelette carboné de type C6-C3. Ils participent également à la formation des anthocyanes acylées par estérification des acides acétique, *p*-coumarique et caféique sur le sucre des anthocyanes. Parmi les acides cinnamiques ; certains (acide *p*-coumarique et acide férulique) peuvent jouer un rôle de précurseurs volatils en conduisant à des composés éthylphénols (4-éthylphénol et 4-éthylgâicol) avec des odeurs désagréables (écurie, animaux, cuir...) [89]. Ceux-ci jouent également un rôle dans le brunissement du moût blanc suite à leur oxydation [181, 182] impliquant particulièrement l'acide caftarique (200 mg/kg) [183].

Les acides benzoïques (Figure 29) sont présents principalement dans le raisin sous la forme d'hétérosides estérifiés dont les teneurs sont généralement comprises entre 100 et 230 mg/kg [183]. Ils ont un squelette carboné de type C3-C1. Dans le vin, ils peuvent être rencontrés sous forme libre qui provient de l'hydrolyse des liaisons esters ou de la dégradation des anthocyanes [176, 178].



acides benzoïques

	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
acide protocatéchique	H	OH	OH	H
acide vanillique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
acide gallique	H	OH	OH	OH
acide syringique	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
acide salicylique	OH	H	H	H
acide gentistique	OH	H	H	OH

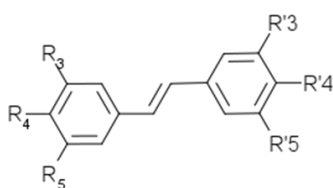


acides hydroxycinnamiques

acide <i>p</i> -coumarique
acide caféique
acide férulique
acide sinapique

Figure 29 : Les acides phénols

Les stilbènes (Figure 30) sont des molécules produites par les plantes en réponse à des attaques bactériennes, fongiques (comme le mildiou) ou virales. Cette famille regroupe un grand nombre de composés en fonction de la position et du nombre de groupements hydroxyles, de la conformation stérique, de la substitution par des résidus méthoxy ou des sucres sur un squelette C6-C2-C6. Les principales molécules de cette famille sont le resvératrol et son dérivé glycosylé, le picéide [184] représenté principalement par le *trans*-resvératrol-3-*O*-glucoside (20 µg/g de matière fraîche à maturité) [185]. Dans le raisin, ces molécules peuvent se polymériser pour donner le pallidol, les viniférines [186] ou l'hopéaphénol, tétramère de resvératrol [178, 187].



Nom	R3	R4	R5	R'3	R'4	R'5
<i>trans</i> -resvératrol	OH	H	OH	H	OH	H
Picéide	OGlc	H	OH	H	OH	H
Piceatannol	OH	H	OH	OH	OH	H
<i>trans</i> -ptérostilbène	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H
Rhapontigénine	OH	H	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Isorhapontigénine	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H
<i>trans</i> -picéide	Gluc	H	OH	H	OH	H
Astringine	Gluc	H	OH	OH	OH	H

Figure 30 : Principaux stilbènes du raisin

## 2.2. Les composés flavonoïdes

Ces métabolites secondaires possèdent un nombre de rôles importants dans le règne végétal qui s'étendent de la pigmentation aux défenses de la plante contre les ultraviolets (rayonnement solaire dont la longueur d'onde est comprise entre 10 et 400 nm) et les attaques de pathogènes [4-6].

La structure de base des composés flavonoïdes qui regroupent un grand nombre de molécules, est constituée d'un squelette carboné en C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (Figure 31) [188]. Les trois cycles constituant ce type de molécule sont dénommés cycle phloroglucinol pour le cycle A, cycle catéchol ou pyrogalloyl, si respectivement un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxyle est en position 5', pour le cycle B et cycle pyrane pour le cycle C. La classification de cette famille s'organise autour du degré d'oxydation et de la substitution en position 3 et 4 du cycle pyranique C. Les anthocyanes et les flavan-3-ols

sont les principaux flavonoïdes présents dans les baies de raisin de type *Vitis vinifera* et donc dans les vins rouges [71, 178].

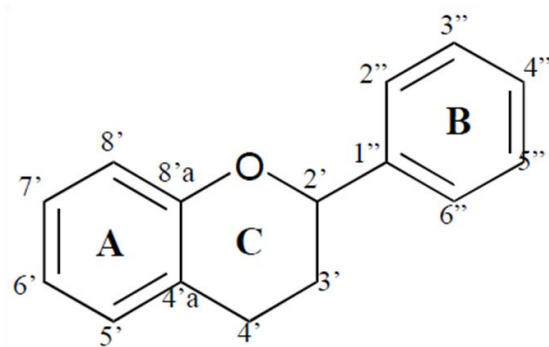


Figure 31 : Squelette général des flavonoïdes

### 2.2.1. Les tanins condensés

Le terme « tanin » regroupe un grand nombre de molécules qui par définition sont capables de former des liaisons stables avec les protéines [189], d'où leur capacité à provoquer l'astringence [190-192], les polysaccharides [193] et les alcaloïdes. Les tanins condensés sont extraits pendant la fermentation alcoolique et la macération post-fermentaire jusqu'à atteindre des teneurs comprises entre 1 et 4 g/L dans les vins rouges et 100 à 300 mg/L dans les vins blancs [194].

Les tanins condensés sont des polymères d'unités flavan-3-ols qui peuvent être subdivisés en deux groupes ; les procyanidines qui sont des polymères d'unité (+)-catéchine ou (-)-épicatéchine et les prodelphinidines qui sont constituées d'unité (+)-gallocatéchine ou (-)-épigallocatéchine (Figure 32). L'existence de plusieurs monomères et de liaisons interflavanes entre eux différentes en position C4/C8 et C4/C6 [195] rend difficile l'identification des oligomères et des polymères pouvant se former (Figure 33). Néanmoins, le poids moléculaire des polymères de flavan-3-ols a été estimé entre 500 et 20000 Da [196] et les dimères et des trimères ont été isolés [71, 178, 197].

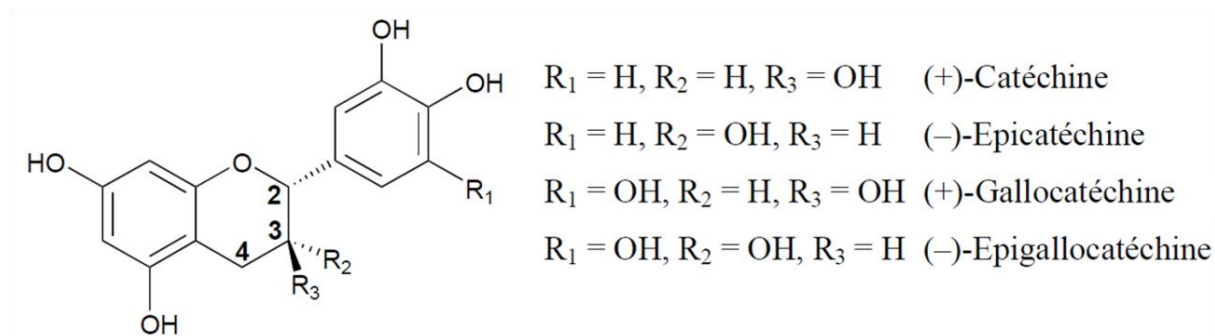


Figure 32 : Monomères de tanins

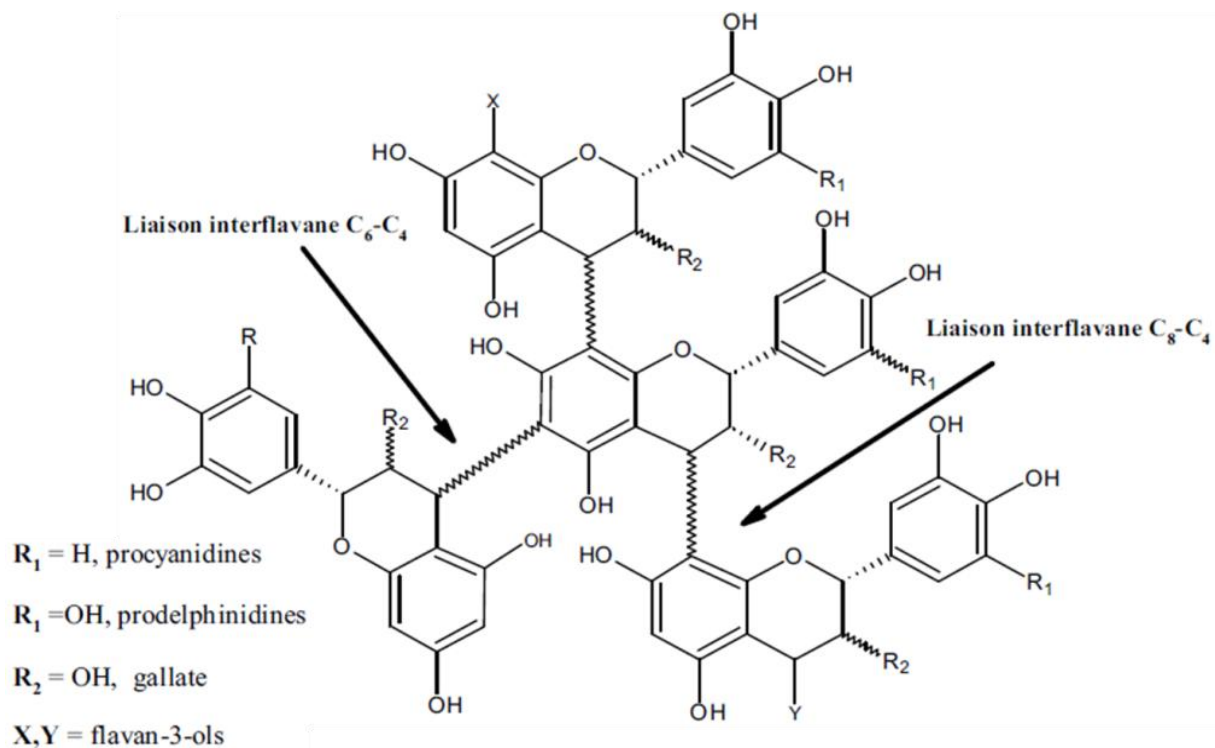


Figure 33 : Structure de polymères d'unités flavan-3-ols

Les tanins sont localisés dans les parties solides de la baie de raisin : pépins et pellicule bien que des traces ont parfois été rapportées dans la pulpe [198]. Dans ces deux compartiments, leur état chimique et leur morphologie sont différents. En effet, les tanins de la pellicule sont localisés sous la forme libre dans la vacuole des cellules ou liés à des protéines et/ou des polysaccharides au niveau de la paroi cellulaire et du tonoplaste [199-202]. Dans le pépin, les tanins sont retrouvés en plus grande quantité au niveau des enveloppes externes et internes situées sous les cellules épidermiques et la cuticule. De plus, leur degré de polymérisation moyen (DPM) est plus important dans la pellicule que dans le pépin [203, 204]. De récentes études ont confirmé ces résultats en observant des DPM variant entre 2,0 et 8,8 dans les pépins alors qu'ils étaient compris entre 4,3 et 35,4 dans les pellicules pour le Cabernet sauvignon et le Merlot [178, 205]. De plus, ces DPM varient fortement au cours de la maturation de la baie de raisin pouvant même être divisés par 3 entre la véraison et la maturité [206]. D'autres facteurs exogènes activant plus ou moins les voies de biosynthèse des tanins, comme le statut hydrique de la vigne lors de la floraison, les températures et le nombre d'heure d'ensoleillement durant la maturation, joueront également un rôle majeur [207].

### 2.2.2. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos* = fleur et *kianos* = bleu) sont les pigments qui confèrent aux végétaux leur couleur allant du rose au violet. C'est donc elles qui sont responsables de la couleur de la baie de raisin et du vin. Elles sont localisées uniquement dans les vacuoles des cellules de la pellicule, sauf pour les cépages dit teinturiers ou elles sont également retrouvées dans la pulpe [208, 209]. Les premières anthocyanes de la baie de raisin commencent à apparaître environ trois semaines avant la véraison (changement de couleur de la baie) [210], mais c'est réellement après celle-ci que leurs concentrations augmentent de manière importante jusqu'à la maturité. La concentration en anthocyanes des raisins dépend fortement du niveau de maturité de la baie [211], mais aussi de facteurs exogènes comme les conditions climatiques [212], le stress hydrique [213, 214], la température [215], les apports en nutriments et en régulateurs de croissance [216, 217], le terroir et le cépage [218].

Durant le processus de vinification, les anthocyanes se retrouvent solubilisées dans le vin lors de la macération et de la fermentation alcoolique. Leurs concentrations dans les vins vont dépendre à la fois de leurs teneurs dans les baies de raisin, du processus de vinification (principalement de la température, du % d'éthanol et de la durée de macération), mais aussi de la composition en pectines, en celluloses et en glucanes des parois des cellules de la pellicule qui va rendre leur extraction plus ou moins aisée [219]. La concentration en anthocyanes varie entre 350 et 1500 mg/L dans les vins rouges issus du raisin du genre *Vitis vinifera* [220].

La baie issue de *Vitis vinifera* contient les 15 anthocyanes qui sont retrouvées dans le vin ; la cyanidine-3-*O*-glucoside, la delphinidine-3-*O*-glucoside, la paeonidine-3-*O*-glucoside, la pétunidine-3-*O*-glucoside, et la malvidine-3-*O*-glucoside qui est toujours majoritaire [71, 194] ainsi que leurs dérivés estérifiés sur l'unité glucoside en position 3 par l'acide acétique (cyanidine-3-*O*-acétylglucoside, la delphinidine-3-*O*-acétylglucoside, la paeonidine-3-*O*-acétylglucoside, la pétunidine-3-*O*-acétylglucoside, et la malvidine-3-*O*-acétylglucoside) [221] ou par l'acide *p*-coumarique (cyanidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, la delphinidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, la paeonidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, la pétunidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, et la malvidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside) [222] (Figure 34). La présence d'anthocyanes qui possèdent des unités glucosides en position 3 et 5 a été mise en évidence pour des vins rouges obtenus à partir de raisin hybrides issus de genres différents de *Vitis vinifera* [209, 223].

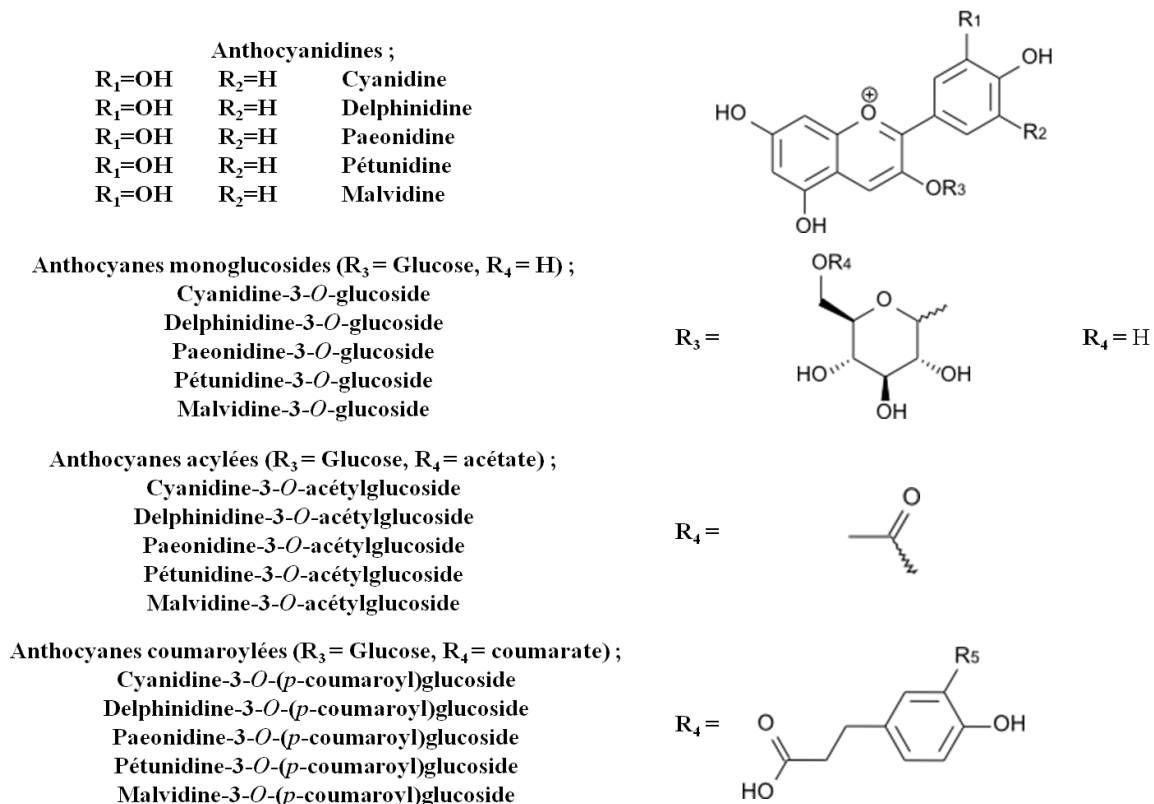


Figure 34 : Structure des 15 anthocyanes de la baie et du vin

Sous leur forme aglycone (anthocyanidine) [221], elles sont instables et particulièrement sensibles à la lumière et aux variations de pH, de température et à la concentration en SO<sub>2</sub> [13, 224, 225]. La glycosylation en position 3 et 5 et l'estérification par les acides organiques cités ci-dessus, leur assurent une meilleure stabilité. Cette instabilité chimique est en partie due au noyau flavylium possédant un oxygène. Par exemple, en fonction du pH du milieu [9, 10], les anthocyanes prendront différentes formes (Figure 35) ;

- le cation flavylium A<sup>+</sup>, de couleur rouge
- les bases quinoniques AO de couleur bleu-mauve
- les pseudobases ou bases carbinols AOH qui sont incolores
- les chalcones C *cis* et *trans*, de couleur jaune claire

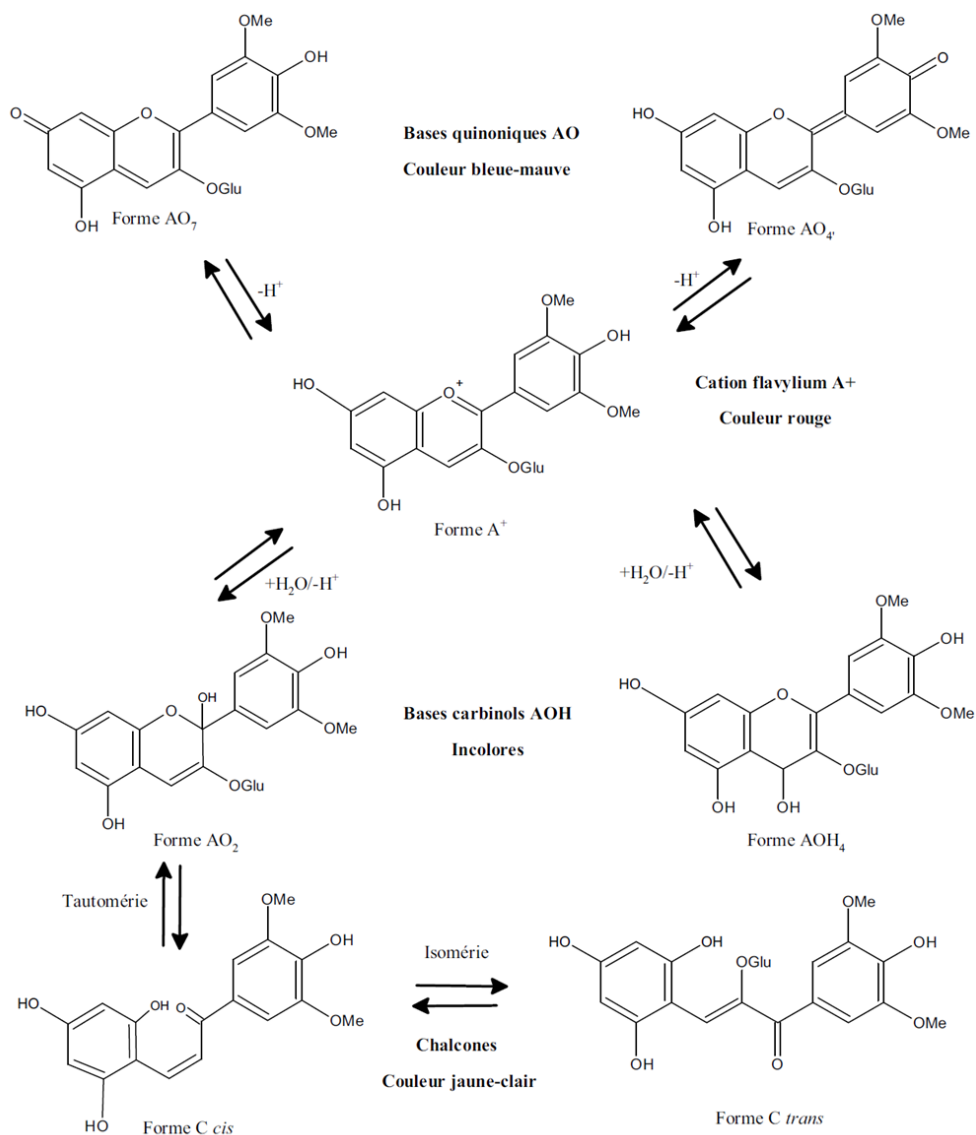


Figure 35 : Transformation de la Malvidine-3-O-glucoside (Brouillard, R., 1978)

Au pH du vin, soit entre 3 et 4, les anthocyanes sont retrouvées majoritairement sous la forme incolore AOH (65 à 85%). La forme rouge A<sup>+</sup> qui contribue majoritairement à la couleur du vin jeune représente entre 4 et 28% alors que la forme bleu-mauve représente 2 à 5% mais qui devient le chromophore majoritaire à pH 4 [13] (Figure 36).

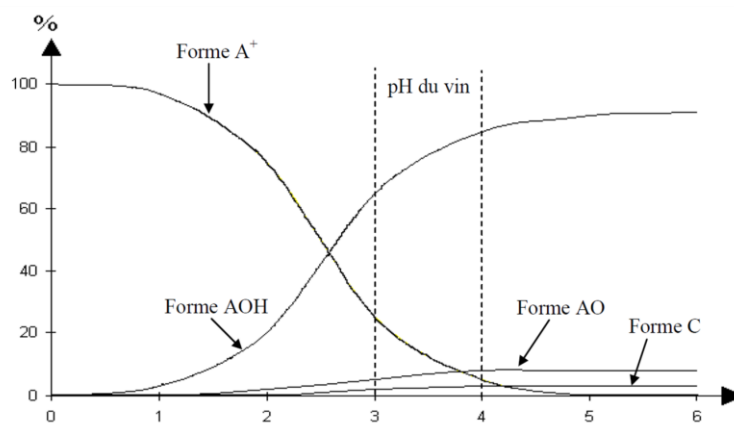


Figure 36 : Structure des anthocyanes en fonction du pH

### 2.2.3. Biosynthèse

Depuis de nombreuses années, la voie de biosynthèse des flavonoïdes a été très bien étudiée chez les fleurs ce qui a permis d'en déterminer les différentes étapes et enzymes intervenant dans celle-ci [7, 226, 227]. Plus récemment, celle du genre *Vitis vinifera* s'est révélée identique à celle des fleurs [228].

Celle-ci commence par la condensation entre trois unités malonyl-CoA et le 4-coumaroyl-CoA conduisant à la formation du squelette des flavonoïdes au travers du 2',3',6',4-tétrahydrochalcone grâce à l'enzyme chalcone synthase (CHS) (Figure 37). La chalcone isomérase (CHI) permet la cyclisation stéréospécifique qui conduit à la formation du cycle C du squelette flavonoïde et donc à la flavanone appelée naringénine. Cette dernière molécule est un carrefour d'où part de nombreuses voies de biosynthèse (flavones, isoflavones, flavan-4-ols). Elle peut par la suite être hydroxylée en position 3 par la flavanone 3-hydroxylase (F3H) pour conduire au dihydrokaempferol. Le dihydrokaempferol est à son tour déshydrogéné sur son cycle C et subir deux types de fonctionnalisation sur le cycle B pour former soit les flavonols soit les leucoanthocyanidines [71, 228, 229].

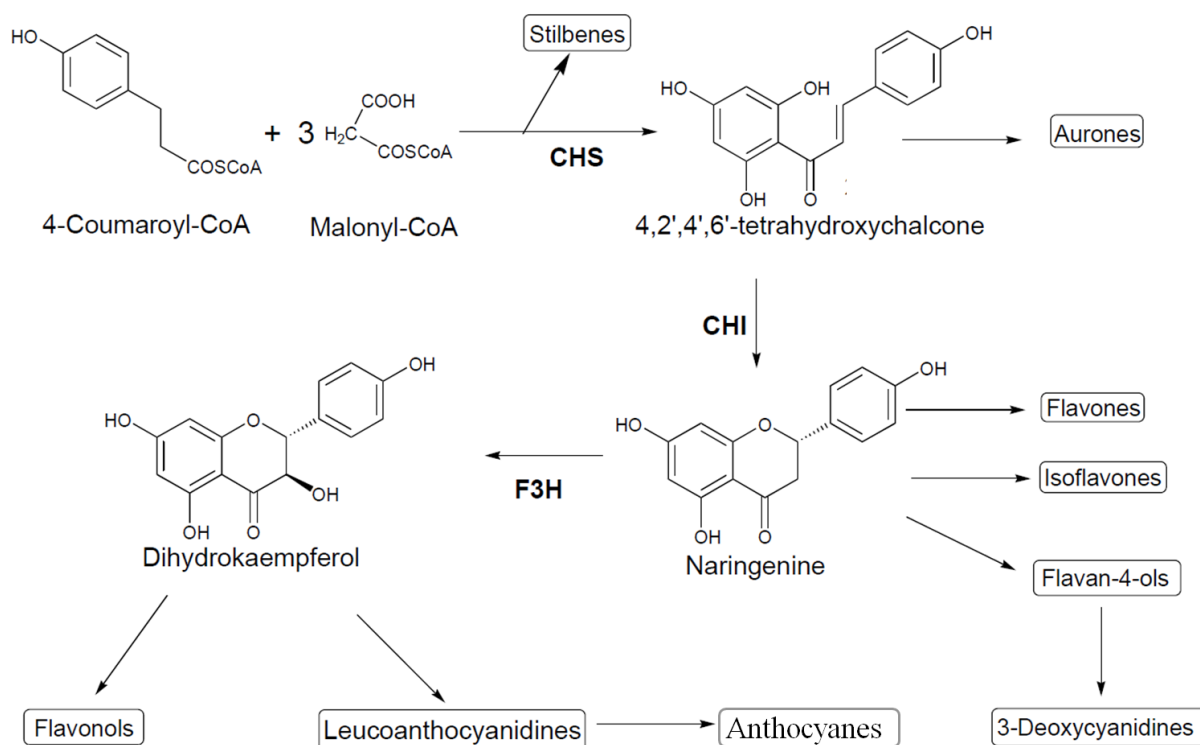


Figure 37 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes



## **2.2.4. Evolution des composés flavonoïdes au cours du vieillissement du vin**

Les flavonoïdes et plus particulièrement les anthocyanes, subissent diverses modifications chimiques (dégradation, complexation...) dues à leurs grandes instabilités chimiques. Par exemple, la teneur en anthocyanes d'un vin diminue fortement durant les premiers mois d'élevage pour arriver à zéro au bout de plusieurs années bien que le vin garde une certaine robe rouge alors que les tanins, par oxydation, vont former des pigments de couleurs jaunes comme la méthide-quinone, la déhydrodicatéchine A [230] ou des sels de xanthylum (Figure 42) [231]. Ces transformations structurales modifient la couleur et l'astringence des vins au cours de leur vieillissement [11-13] puisque les nouvelles molécules formées peuvent par exemple, contribuer au bout de dix ans à hauteur de plus de 85% à la couleur des vins [11].

### **2.2.4.1. Dégradation des anthocyanes**

L'oxygène dissout dans le vin va être rendu actif sous forme de peroxyde ce qui est aidé par la présence de métaux de transition comme le fer ou le cuivre ce qui va lui permettre d'attaquer les anthocyanes [232]. En effet, depuis de nombreuses années, la formation de produits de dégradation de cette famille de molécules par des attaques nucléophiles a été observée. Ainsi, la malvidine-3,5-*O*-diglucoside peut conduire à la formation d'esters benzyloxyphenylacétiques (malvones) [233] qui peuvent à leur tour évoluer en fonction du pH en acide syringique et en 2,4,6-trihydroxy-phenylacétique [234]. Plus récemment, la dégradation de la malvidine-*O*-glucoside en milieu acide en trihydroxybenzaldéhyde, acide syringique, malvidone A ou en différentes chalcones a été démontrée (Figure 38) [235].

Les anthocyanes sont également sensibles au pH, à la température ou à la lumière [236], d'où les techniques d'élevage (cave thermostatée) visant à les protéger. En effet, un pH acide entraîne un déplacement de l'équilibre des anthocyanes par hydrolyse de la liaison glucosidique vers la forme chalcone comme vu précédemment [12, 237] (Figure 38). Ensuite, cette chalcone peut former des benzaldéhydes ou des acides benzoïques par rupture puis réarrangement du squelette carboné. Plusieurs produits de dégradation en fonction de l'anthocyane mère sont formés (2,4,6 trihydroxybenzaldéhyde, acide syringique...) [178, 238, 239].

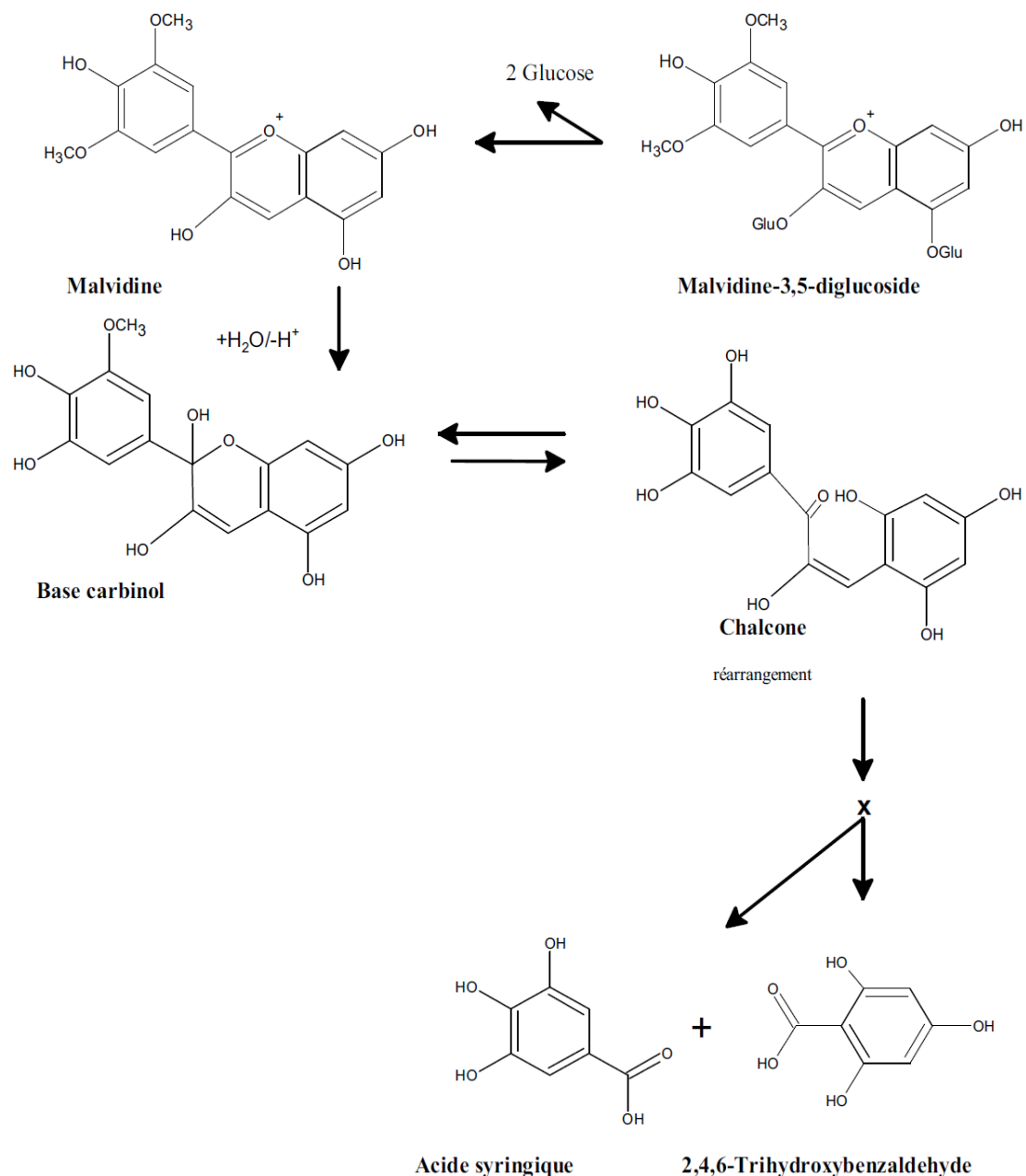


Figure 38 : Exemple de mécanisme de dégradation des anthocyanes

#### 2.2.4.2. La copigmentation

La formation de complexes d'empilement avec d'autres flavonoïdes appelée copigmentation, ainsi que la complexation métallique contribuent également à la stabilisation des anthocyanes, mais aussi à leur couleur. En effet, les acides phénols, des flavanols et des tanins vont agir comme copigments [240-243] ce qui entraîne un effet bathochrome (décalage la couleur vers le mauve) en déplaçant l'équilibre entre les différentes formes d'anthocyanes vers des formes A<sup>+</sup> (rouge) et AO (bleu-mauve) ainsi qu'un effet hyperchrome (augmentation de l'intensité colorante) [178, 244-247]. Ce type de réaction sera l'apanage des vins jeunes puisqu'elle peut contribuer jusqu'à 50% de leur couleur [244]. La copigmentation peut être intermoléculaire. Dans ce cas, des interactions non covalentes de type de Van der Waals et

hydrophobes permettent l'établissement d'un *stacking*  $\pi$ - $\pi$  [247, 248]. Cette complexation protège l'anthocyane de l'hydratation. Lorsque l'anthocyane est coumaroylée, une copigmentation intramoléculaire peut avoir lieu entre la partie anthocyanidique et l'acide coumarique d'une même molécule [249, 250]. A forte concentration, les anthocyanes peuvent également s'auto associer [251] pour former des dimères par empilement hydrophobe mais aussi par des liaisons covalentes pour former des complexes de type A-A<sup>+</sup> [252, 253]. Ces associations entraîneront une intensification de la couleur. Grâce à la conformation de son groupe hydroxyle, l'(-)-épicatéchine est le copigment qui forme le plus efficacement des complexes [254, 255].

#### ***2.2.4.3. Polymérisation interflavonoïdes directe***

Au cours de l'élevage, les flavan-3-ols et les tanins sont le siège de plusieurs réactions [196] qui participent à la diminution de l'astringence des vins [256]. Un premier type de réaction est la polymérisation dite ordonnée entre unités procyanidiques qui n'implique pas le cycle B (Figure 39). Pour cela, une dépolymérisation s'effectue par rupture d'une liaison interflavanes C4-C8 ou C4-C6 des tanins condensés. Cette réaction conduira à la formation d'une unité flavanol et d'un carbocation en C4<sup>+</sup>. Puis ce dernier subira une addition nucléophile avec les sommets C6 ou C8 des flavanols monomères ou polymères [190], c'est ainsi que le degré de polymérisation dans le vin augmente [257, 258]. Le même type de réactions se déroule avec les thiols [259] ou d'autres nucléophiles [196, 260]. Ainsi, les flavanols carbocations de types C4<sup>+</sup> peuvent se lier aux sommets 6 ou 8 d'une anthocyane par son carbone 4 (hétérocycle C) ce qui mène à la formation d'un complexe T-A<sup>+</sup>, un dérivé de couleur rouge-orangé [261-263] (Figure 40). Les unités flavan-3-ols peuvent également être responsables d'attaques nucléophiles par leurs sommets 6 ou 8 sur le carbone 4 des anthocyanes pour former un complexe A<sup>+</sup>-T..

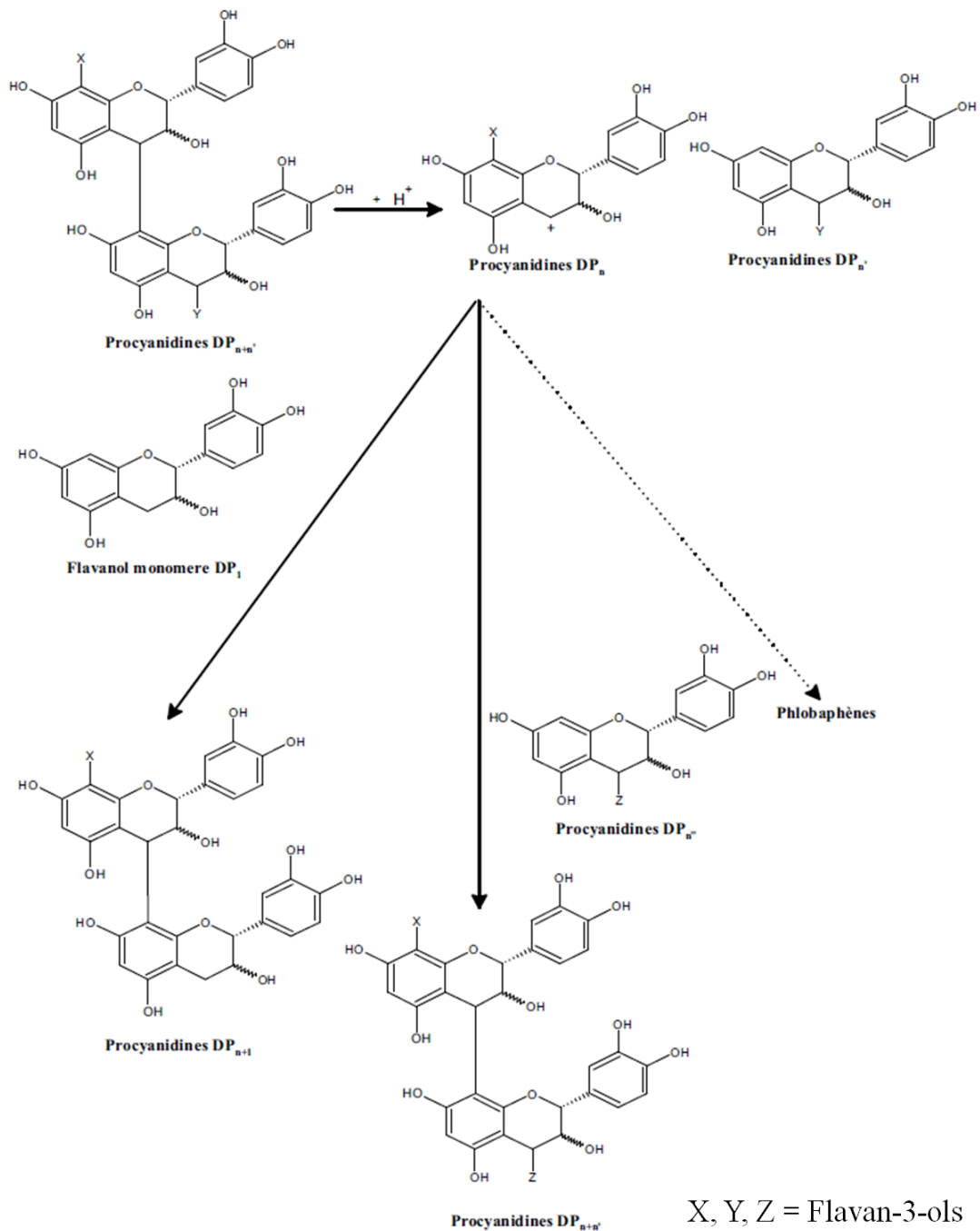


Figure 39 : Polymérisation ordonnée des flavanols (Vidal et al., 2002)

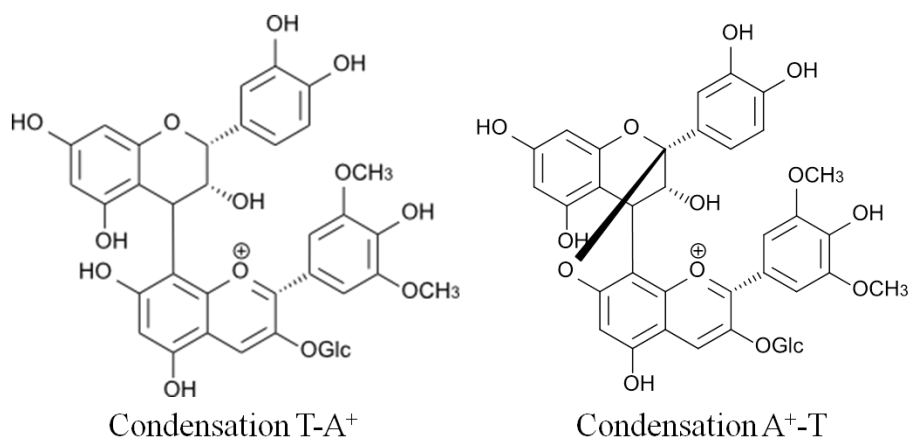


Figure 40 : Condensation entre une unité flavan-3-ol et une anthocyanone

La polymérisation « désordonnée », qui elle fait intervenir uniquement le cycle B, utilise l'oxygène dissous du vin et aboutit à la formation de semi-quinones et de quinones, espèces chimiques extrêmement réactives [264] (Figure 41). Ces différentes réactions de polymérisations diminuent la sensibilité des procyanidines à l'oxydation [178, 265].

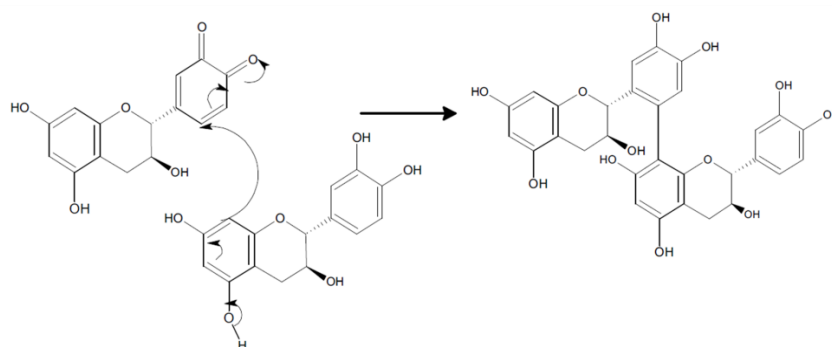


Figure 41 : Polymérisation désordonnée des flavanols

#### 2.2.4.4. Polymérisation interflavonoïdes indirecte

De nombreuses études ont montré la polymérisation indirecte des flavanols grâce à plusieurs intermédiaires. Le premier découvert fut l'acétaldéhyde [10, 12, 266] dont la contribution est maintenant bien comprise [267-269] (Figure 42). Ce dernier, absent du raisin, provient de l'oxydation de l'éthanol [270] ou est produit biochimiquement par les levures au cours de la fermentation alcoolique [271]. Ce type d'association peut être étudié par phloroglucinolyse qui entraîne la formation d'un composé du type phloroglucinol-éthyl-phloroglucinol [272] utilisable comme marqueur d'évolution oxydative des tanins [273]. Le produit de condensation formé par deux unités catéchine peut ensuite conduire à la formation d'un sel de xanthylium de couleur jaune par oxydation (Figure 42) [71, 178, 274].

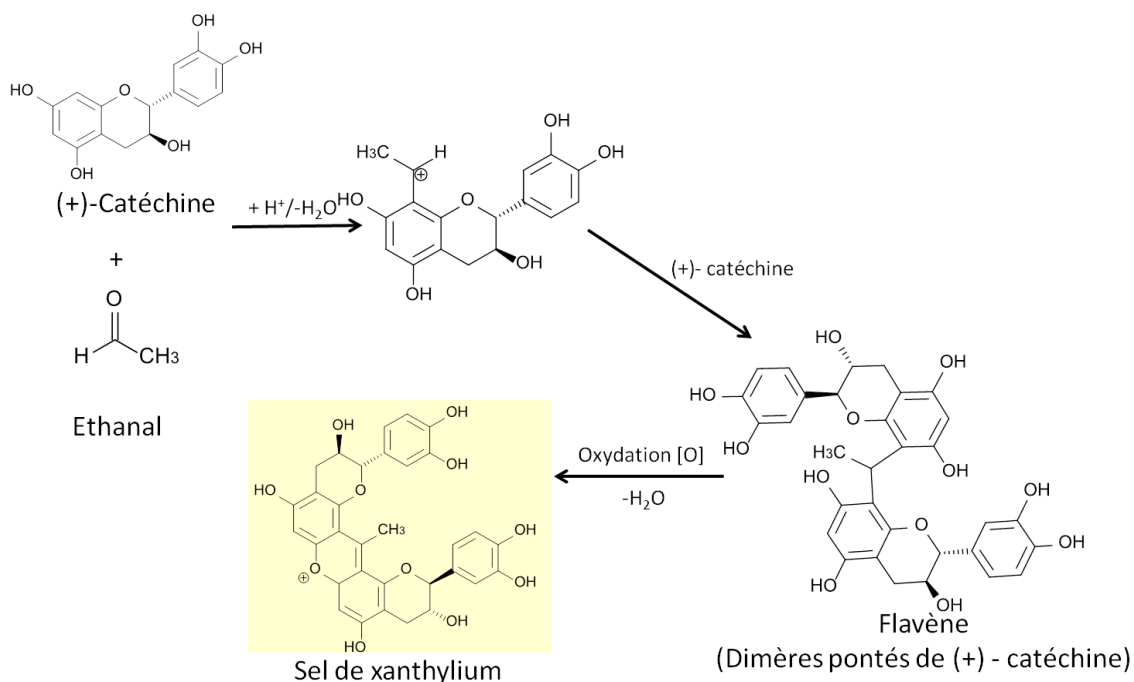


Figure 42 : Condensation de catéchine par l'intermédiaire d'éthanal

Aujourd'hui, la mise en évidence d'une polymérisation par l'intermédiaire de l'acide glyoxylique, issue de l'oxydation de l'acide tartrique par  $\text{Fe}^{3+}$  ou  $\text{Cu}^{2+}$  en acide dihydroxytartrique [275-279], laisse apparaître de nouveaux composés évoluant rapidement vers des pigments jaunes au pH du vin (Figure 43). L'élevage en barrique, par l'intermédiaire du furfural et de ces dérivés produit par la chauffe des douelles, contribue également à la formation de complexes flavonoïdes [71, 178, 280-282].

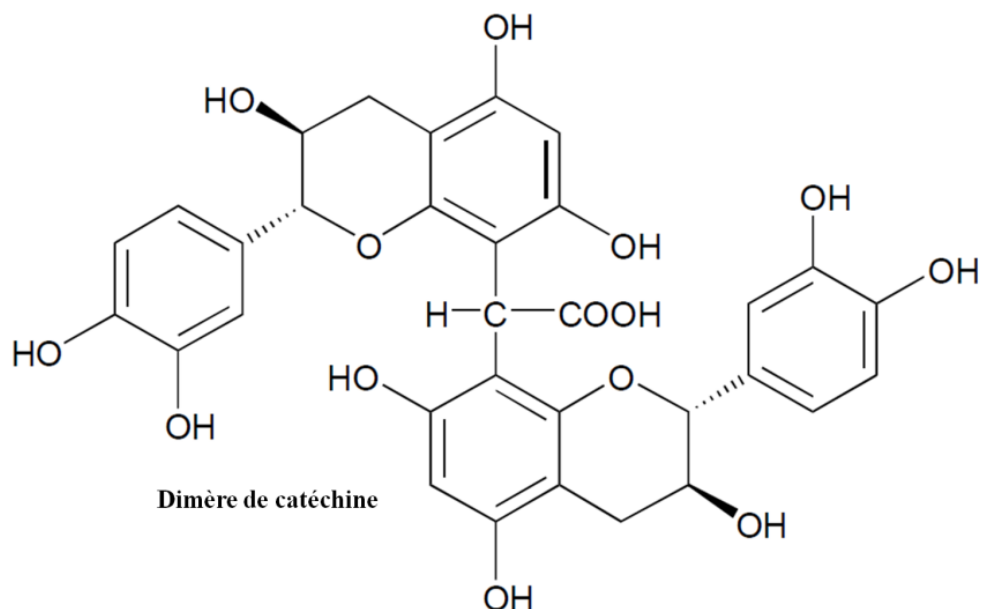


Figure 43 : Produit de condensation de catéchine par l'intermédiaire de l'acide glyoxylique

Ces différents intermédiaires contribuent de plus à la formation de complexes flavano-anthocyaniques. En effet, le carbocation benzylique subit l'attaque nucléophile des sommets 8 et 6 d'une anthocyane pour aboutir à la formation de nombreux composés rouge-violet (effet bathochrome sur l'anthocyane native) [231, 283-288] indispensables à la stabilisation de la couleur des vins rouges. La réaction s'arrêterait lorsque les deux extrémités du produit de condensation sont occupées par des anthocyanes.

Pour finir, des réactions inter-anthocyaniques par l'intermédiaire d'éthanal ont récemment été découvertes [289] et étudiées. Par exemple, la forme majoritaire du dimère d'unité malvidine-3-*O*-glucoside, au pH du vin, contient une unité malvidine-3-*O*-glucoside sous la forme flavylum colorée  $\text{A}^+$  et l'autre sous la forme hydratée incolore  $\text{AOH}$  [71, 178].

### **3. Propriétés sensorielles des tanins**

Les teneurs et le profil qualitatif des tanins sont déterminant sur les qualités organoleptiques d'un vin [290]. En effet, les tanins du vin apportent à la fois des qualités positives au vin comme la structure, le « corps » du vin mais aussi des défauts comme l'astringence, l'amertume ou l'âpreté du vin. Ces deux types de perceptions doivent en effet être en équilibre pour avoir un grand vin. Cet équilibre va dépendre principalement de la quantité et qualité des tanins solubilisés dans le vin. Par leurs propriétés à se polymériser, ils vont également jouer un rôle sur la couleur de la boisson [240, 291]. Les termes de « bon » et de « mauvais » tanins sont souvent utilisés pour tenter de rapprocher les descripteurs cités précédemment à des molécules identifiées. Mais, malgré les avancées importantes sur la composition des vins, la complexité du milieu, le nombre de molécules entrant en jeu, l'aspect physiologique et cérébral des perceptions organoleptiques [292] rend difficile l'attribution des propriétés gustatives aux molécules mises en jeu (tanins condensés ou hydrolysables, anthocyanes...). Néanmoins, de nombreuses études commencent à permettre une compréhension entre une réactivité chimique et des descripteurs organoleptiques.

#### **3.1. Le goût**

Le « goût » s'obtient en mangeant, mais c'est une idée vague et il est généralement dit que seule la bouche perçoit le goût, ce qui est faux. En effet, des expériences montrent que si des personnes goûtent un met coloré et ce même met incolore, celles-ci les percevront différemment. Le goût d'un aliment provient donc d'une combinaison subtile entre le goût, la vue mais aussi le toucher (texture en bouche par exemple) et l'odorat [293]. Ce chapitre portera malgré cela uniquement sur les sensations perçues en bouche compte tenu de l'objectif de notre travail.

Deux paramètres jouent un rôle essentiel dans le goût ; les cellules qui portent les récepteurs des molécules sapides et qui sont regroupées en papilles aussi appelées bourgeons du goût et la salive qui joue un rôle important au niveau sensoriel puisqu'elle assure le transport des molécules sapides. Les bourgeons du goût, de structure généralement sphérique, ont une composition qui varie en fonction de leur localisation. Au nombre de 500 à 10000, mais en moyenne au nombre de 4000, ils sont situés à 75% sur la surface dorsale de la langue, le reste étant distribué sur le palais mou, le pharynx et même la partie supérieure de l'œsophage. Sur la langue, ils sont de type fongiforme, sur le bout et la périphérie de celle-ci, filiforme sur le centre et caliciforme sur son fond (Figure 44) [2]. Ils se composent en général

de 60 à 120 cellules modifiées de l'épithélium, appelées chémorécepteurs qui portent une vingtaine de microvillosités sur le côté apical [294]. Le bourgeon gustatif s'ouvre vers la cavité buccale par un pore alors que sa portion antérieure est innervée par le nerf facial principalement pour le bout de la langue et le nerf glossopharyngien pour sa partie la plus profonde. C'est ensuite au niveau du lobe préfrontal du cerveau, que toutes ces informations, odorat compris, seront traitées. Chaque type de récepteur gustatif peut être stimulé par une large gamme de substances chimiques mais traditionnellement il est dit qu'elles reconnaissent surtout 4 saveurs primaires qui se répartissent sur la langue de la manière suivante :

- Le bout de la langue est sensible au sucré
- Les côtés de la langue sont sensibles au salé et à l'acidité
- Le fond de la langue est sensible à l'amertume.

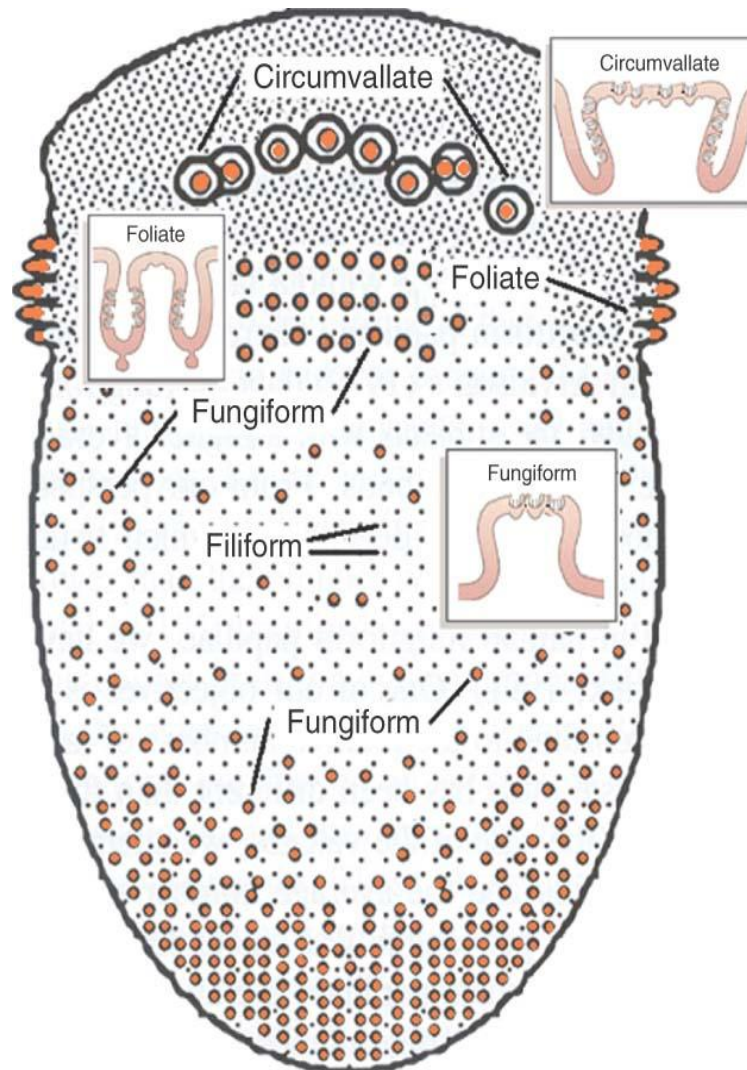


Figure 44 : Schéma des papilles de la langue humaine (Doty, R. L., 2012 [2])



Aujourd'hui, cette schématisation est remise en cause puisque celle-ci proviendrait d'une mauvaise traduction en 1942 des travaux d'un scientifique allemand D. P. Hänig [295] par le psychologue américain Edwin G. Boring [296]. Malgré de nombreuses corrections en 1974 [297] et surtout par les travaux de Linda Bartoshuk [298] en 1993, cette erreur persiste encore aujourd'hui à se répandre dans les écrits. La perception du goût serait en réalité moins segmentée et toutes les papilles, quelle que soit leur localisation, percevraient les goûts primaires. De plus, la classification des goûts en quatre goûts primaires est réductrice car il y a d'autres saveurs qui n'entrent pas dans cette classification comme la saveur « piquante » (piment, gingembre), métalliques (sulfate ferreux hydrate), grasse... Ensuite, les réponses gustatives varient selon les individus puisque par exemple, le goût du phénylthiocarbamide (saveur amère) n'est pas perçu par environ 35 % de la population.

En plus de son rôle d'humidification des muqueuses, de préparation des aliments pour leur digestion, de lubrifiant et d'antiseptique, la salive par son rôle de transporteur des molécules sapides vers les bourgeons du goût permet la perception du goût comme l'amertume. Elle est produite au niveau des glandes parotides, sous maxillaires et sublinguales [299] avec un débit d'environ 0,75 mL/min [300]. La salivation est contrôlée par le système nerveux autonome et peut être activée par différents facteurs physiques (odeur, vue), chimiques (substances acides) ou biologique (microbisme intense). Elle peut également être inhibée par les émotions, les médicaments ou des substances astringentes.

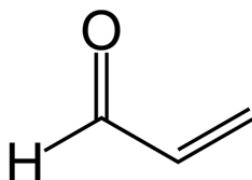
Constitué à 99% d'eau, la salive demeure d'une grande complexité et contient plus de 1166 protéines différentes, dont des glycoprotéines (ou mucines) ainsi que des  $\alpha$ -amylases, maltase, lipase..., mais aussi des lipides (cholestérol, phospholipides...), des sucres (citrate, lactate...), des hormones (testostérone, progestérone...) et des ions inorganiques ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $HCO_3^-$ ...) [301]. Compte tenu de sa riche composition, la salive pourrait un jour remplacer les prises de sang ce qui est déjà le cas pour la recherche de stupéfiants.

Les protéines riches en proline constituent jusqu'à 70% des protéines salivaires. Trois principales classes peuvent être distinguées, les protéines à caractère acide, les protéines à caractère basique et les protéines glycosylées, qui représentent respectivement 30, 23 et 17 % de la totalité des protéines salivaires [302]. L'autre grande famille de protéine de la salive correspond aux mucines qui représentent jusqu'à 26% des protéines salivaires [303]. Elles sont représentées par MG1 qui constitue un groupe de protéines de haut poids moléculaire (MM= 2000 à 2500 kDa) hautement glycosylées et MG2 qui est une structure peptidique de faible poids moléculaire (MM= 150-200 kDa) [304]. Ce sont ces protéines qui sont

majoritairement responsables des propriétés lubrifiantes de la salive [178]. Le reste des protéines salivaires est constitué de protéines de faibles poids moléculaires, riches en histidine, arginine et lysine [305].

### 3.2. L'amertume

Comme cité précédemment, l'amertume, issu de latin *amaritudo* (de *amarus* ; pénible) est considérée comme l'une des cinq saveurs dites élémentaires [306]. Elle est causée essentiellement par les composés phénoliques tel que les tanins les anthocyanes ou les acides phénols [307], mais aussi par différents sels métalliques, acides aminés, peptides et alcaloïdes [308] présents dans le vin. Ce goût va être perçu dès la mise en bouche du vin [309]. Ce sont les molécules de faibles poids moléculaires et polaires qui causent majoritairement cette perception [15] par interaction avec les parties lipidiques de la papille. Les récepteurs de l'amertume sont des protéines transmembranaires couplées avec des protéines G (GPCRs ; glycoproteins coupled receptor) [310]. Aujourd'hui, 25 protéines G humaines ont été identifiées, mais le nombre et la diversité des molécules amères laissent supposer l'existence d'une grande variété de récepteurs et de plusieurs mécanismes de transduction de l'amertume [311]. Dans le vin, une légère amertume ajoute à la complexité et à la persistance gustative. L'amertume peut aussi être due à une maladie bactérienne du vin, la maladie de l'amer qui par dégradation du glycérol conduit à l'acroléine, un aldéhyde extrêmement toxique par inhalation et ingestion (Figure 45) [19].



Acroléine

Figure 45 : Molécule d'acroléine

### 3.3. L'astringence

L'astringence, issue du terme latin *astringere* (resserrer, tenir, entourer), est définie par la sensation de sécheresse buccale qu'elle provoque. Longtemps, l'astringence a été définie comme un goût, mais plusieurs études ont montré qu'il s'agirait plutôt d'une sensation tactile. En effet, elle n'est pas uniquement ressentie sur la langue, mais est perçue dans toute la cavité buccale [312]. De plus, contrairement au goût qui a tendance à diminuer lors d'injections répétées [313], l'astringence, elle, augmente de manière significative [314]

jusqu'à un phénomène de saturation. Or, depuis longtemps les tanins qui sont naturellement astringents, sont utilisés en tannerie pour stabiliser les peaux d'animaux en les transformant en cuir. Les phénomènes mis ici en jeu sont la combinaison des tanins avec les protéines [315] et plus particulièrement avec le collagène de la peau. Plusieurs études ont confirmé la capacité des tanins à s'associer avec les protéines salivaires pour former des complexes par précipitation. Les mucines, protéines de la lubrification buccale, n'étant plus active, la viscosité de la salive diminue ce qui entraîne une sensation de rugosité [316] et une augmentation des frictions [317-319]. En effet, ce phénomène de précipitation a été confirmé en observant le changement du profil protéique de la salive lorsque celle-ci est mise au contact avec une solution décrite comme astringente [320]. Ces interactions sont rendues possible par la présence sur ces protéines de multiples parties riches en proline [321].

### **3.4. Amertume et astringence des tanins condensés**

Depuis longtemps, il a été observé qu'un vin riche en tanin avait une tendance à être amer et astringent. L'amertume des flavan-3-ols a été la première à être caractérisée [14]. Plus récemment, parallèlement à l'amertume, c'est l'astringence de ces composés, qui a été étudiée, mais leur implication reste mal défini et sujet à controverse [15-19]. Ainsi, la (+)-catéchine et l'(-)-épicatéchine seraient à la fois amères et astringentes. Pour l'(-)-épicatéchine, l'amertume et l'astringence seraient plus fortes et persistantes qu'avec la (+)-catéchine [17, 18]. Cette différence serait due à une meilleure propriété de l'(-)-épicatéchine à réagir avec les protéines de la salive grâce à la conformation stéréochimique du groupement hydroxyle en position 3 de l'hétérocycle [17, 20]. Une étude sur la (+)-catéchine dans le vin a montré qu'au fur et à mesure de l'augmentation de sa concentration, son amertume croît plus rapidement que son astringence ce qui semble souligner le caractère plus amer qu'astringent des tanins monomères [16, 21].

La confrontation entre les monomères et les polymères de flavan-3-ols a permis de déterminer la variation de perception de l'amertume et de l'astringence en fonction de leur degré moyen de polymérisation (D<sub>Pm</sub>). Ainsi, les monomères dans le vin atteignent leur maximum d'intensité organoleptique à des concentrations plus basses et persistent moins longtemps en bouche que les polymères [21]. Donc, à des concentrations égales lorsque le D<sub>Pm</sub> augmente, l'amertume atteindra son maximum pour un D<sub>Pm</sub> de 4 alors que la perception d'astringence va croître jusqu'à un D<sub>Pm</sub> de 7 [22]. Plus récemment, après séparation des tanins de pépins et de pellicules, de nouvelles études ont conduit à des maximums différents. En effet, les maximums d'amertume et d'astringence des tanins de

pépins seraient atteints autour d'un DPM de 7 avec une intensité plus importante pour l'astringence. Pour les tanins de pellicules les maximums d'amertume et d'astringence se situeraient respectivement autour d'un DPM de 4 et 20. Aujourd'hui, il est admis que les tanins de pépins sont plus amers que ceux des pellicules, mais la différence d'astringence entre ces deux origines a été remise en cause par d'autres études qui ne trouvent pas de différence significative entre les deux [322].

Dans un vin en cours d'élevage, l'astringence diminue. Cette diminution serait liée à la précipitation des polymères de haut poids moléculaire [309] or la solubilisation de fractions de procyanidines ayant un DPM supérieur à 20 a été perçue comme très astringentes [323]. Cette dernière fraction diminuant au cours du vieillissement du vin, celui-ci devient donc moins astringent.

Le seuil de perception de l'astringence est plus bas que celui de l'amertume, mais de manière générale, il varie en fonction du milieu (concentration en sucres, en acide tartrique, en flavan-3-ols, éthanol, pH...) [23-25]. Ainsi, la perception d'astringence diminue lorsque la concentration en éthanol et/ou le pH augmentent. L'éthanol limiterait la précipitation des protéines lorsqu'elles entrent au contact avec les tanins ce qui permettrait de conserver la caractéristique lubrifiante de la salive. L'amertume augmente également de façon corrélée avec la concentration en éthanol. Ces raisons font que la détermination de l'astringence de l'amertume d'un vin, influencées par de nombreux facteurs physico-chimiques externes et par la matrice, ne peuvent être évaluées simplement par la composition et la concentration des tanins. Néanmoins, il semblerait que plus le DPM augmente, plus le seuil de détection diminue [290].

### **3.5. Amertume et astringence des tanins hydrolysables**

Depuis toujours, la variabilité organoleptique d'un vin élevé dans différentes barriques pour un même traitement est observée. Celle-ci est en grande partie due à la variabilité en quantité et en qualité de la fraction extractible du bois de chêne comme présenté précédemment. Récemment, la communauté scientifique s'est intéressée à la partie tannique de cet extrait et plus précisément aux ellagitanins. Ces derniers étaient suspectés de jouer un rôle, comme les tanins du raisin, au niveau de l'astringence et de l'amertume

Récemment, les seuils de perceptions de ces tanins ont été recherchés grâce à un test half mouth (demi-langue). Ce test consiste à placer deux gouttes de solution supplémentée ou non par l'analyte sur chaque moitié de la langue. Les seuils d'astringence rapportés de ces

molécules sont de 1,03 mg/L pour les monomères castalagine et vescalagine, 0,21 mg/L pour les monomères glycosylés grandinine et roburine E, 5,37 et 5,55 mg/L pour les dimères roburine A et D et 12,09 et 12,49 mg/L pour les dimères glycosylés roburine D et B [26, 27]. La faible concentration des ellagitanins est donc compensée par des seuils de perception faibles pour les monomères. Les dimères n'existent pas à ces concentrations dans le vin mais doivent certainement contribuer à la sensation d'astringence par des phénomènes additifs ou des effets de synergies. De plus, les seuils montrent que la conformation stéréochimique du carbone 1 du glucose n'a pas d'influence sur celui-ci. A contrario et comme déjà montré pour les flavan-1-ols [324], la glycosylation du carbone 1 entraîne une diminution du seuil de perception. Les seuils des dérivés d'ellagitanins ont aussi pu être déterminés. Les acutissimines A et B ont un seuil de détection pour l'astringence de 1,09 et 1,93 mg/L, les épiacutissimines A et B de 1,81 et 3,02 mg/L et de 2,3 mg/L pour la  $\beta$ -1-*O*-éthylvescalagine [28]. Ces seuils de perception montrent à la fois l'importance du flavanol lié sur la vescalagine (diminution du seuil par la catéchine) et du type de liaison (diminution du seuil pour une liaison C1-C8).

Comme il était envisageable, les seuils de perception d'amertume des ellagitanins et de leurs dérivés est beaucoup plus haut. Ils n'ont donc été déterminés que pour la vescalagine, la castalagine, la grandinine, les roburine A, B, C, D, E et le  $\beta$ -1-*O*-éthylvescalagine [26, 28] et se situent respectivement à 1578,5 mg/L, 1578,5 mg/L, 655,6 mg/L, 1535,5 mg/L, 1159,5 mg/L, 1199,1 mg/L, 1372,7 mg/L, 437,1 mg/L et supérieur à 1,44 g/L. Les ellagitanins ne contribuent donc pas directement à l'amertume des vins mais plutôt par des effets additifs ou synergiques. Cependant, la glycosylation sur le carbone 1 du glucose situé au centre du squelette carboné des ellagitanins (Figure 15 A), comme pour l'astringence, diminue le seuil de perception de l'amertume alors que le couplage avec un éthanol l'augmente fortement. De nouvelles études pour déterminer les seuils de perception de ces molécules grâce à des tests triangulaires, une solution modèle de vin et du vin restent à réaliser. En effet, le test half mouth ne tient pas compte de l'hétérogénéité des récepteurs gustatifs de la langue, la goutte peut donc ne pas être placée de manière optimale sur la langue [325].

## **4. Le proche infrarouge**

Le proche infrarouge a été découvert dès le 17<sup>ème</sup> siècle. Pourtant il a fallu attendre le 20<sup>ème</sup> siècle pour voir son essor à la fois en recherche mais aussi dans les industries. Aujourd'hui, plusieurs domaines industriels tels que l'agroalimentaire ou la pharmaceutique l'utilise principalement pour déterminer la qualité et la conformité des produits. Ces dernières années, le proche infrarouge a été adapté au domaine viti-vinicole à travers des appareils qui permettent tout d'abord l'analyse de nombreux paramètres du vin (acidité total, pH, glucose, fructose...) [326-328] puis plus récemment l'analyse de la qualité de la vendange entrant au chai [329] ainsi que la mesure de plusieurs indicateurs sur la maturité du raisin directement à la parcelle. Ce n'est que dans les années 1980 qu'il fait son apparition dans le domaine du bois au travers des recherches menées par la papeterie dans le but d'estimer le rendement en pâte des bois puis les teneurs en cellulose, hémicelluloses et lignines [330-333]. Plus tard, le proche infrarouge a permis de déterminer la composition de la fraction extractible du bois de chêne. La tonnellerie s'en est donc servie comme outils de classification fine des bois (Oakscan®)[109], jusqu'alors classifiés de manière empirique.

### **4.1. Introduction**

L'étude de la lumière à partir du 17<sup>ème</sup> siècle permit de poser les bases de la spectroscopie infrarouge. Isaac Newton en 1666 découvre que la lumière blanche est un ensemble de longueurs d'ondes monochromatiques grâce à son expérience de décomposition de la lumière à l'aide de prismes. Il est le premier à associer une longueur d'onde à une couleur qu'il découpe en sept zones (rouge, orange, jaune, vert, bleu indigo, violet). Jusque là, l'explication de la décomposition de la lumière en différentes couleurs était considérée comme la résultante d'un affaiblissement de l'intensité de la lumière blanche par le prisme. Quelques années plus tard, en 1678, la théorie ondulatoire de la lumière est élaborée par Huygens puis en 1803, Young, en travaillant sur les phénomènes d'interférences, permet de calculer les longueurs d'onde du visible [334].

Parallèlement, en 1800, le rayonnement infrarouge est découvert par Hershel. Celui-ci, en étudiant l'énergie calorique du rayonnement solaire grâce à un thermomètre, s'aperçoit que les maximums d'absorptions sont en dehors de la plage de longueur d'onde du visible. A l'époque connu sous le nom de rayonnement calorique, il sera renommé rayonnement infrarouge par Becquerel vers 1870 [334].

Le premier appareil, conçu par Melloni en 1834, ne permet d'obtenir qu'un spectre rudimentaire. Néanmoins, il découvre la transparence du chlorure de sodium au rayonnement infrarouge ce qui permettra d'améliorer les performances des appareils infrarouges. En 1880, la mise au point des détecteurs thermocouples (mesure de la température par différentiel entre deux points) en remplacement des détecteurs thermopiles (mesure de la température en un point), permettra d'améliorer fortement la sensibilité des appareils infrarouges et le calibrage de ceux-ci. C'est à cette époque (1881) que les premiers spectres de liquides organiques sont acquis. Puis en 1900, les prismes sont remplacés par un système de réseaux ce qui permet d'effectuer le fractionnement en rayonnement monochromatique. Grâce à cela, en 1905, Coblentz observe le spectre de 19 molécules et postule que ces bandes puissent faire partie d'une série d'harmoniques [335]. En 1902, Michelson crée un interféromètre qui permet de travailler sur une lumière polychromatique mais le traitement du spectre par une transformée de Fourier est longue et peu fiable [334]. Par la suite et dans toute la première partie du 20<sup>ème</sup> siècle, les avancées technologiques se concentrent essentiellement sur le moyen infrarouge (2500 à 25000 nm) [335].

La spectroscopie proche infrarouge (700 à 2500 nm), elle, va se développer aux Etats-Unis jusqu'en 1945, date de commercialisation des premiers appareils dans un but de routine analytique. La spectroscopie infrarouge devient vite la technique de référence pour l'identification de substances chimiques mais aussi l'analyse de produits agroalimentaires [335]. Les premières applications ont consisté à mesurer les teneurs en eau de produits notamment agroalimentaires. En effet, le spectre proche infrarouge de l'eau possède cinq bandes clairement identifiables avec des maximums à 760 ; 970 ; 1190 ; 1450 et 1940 nm. Ces bandes proviennent des harmoniques des bandes fondamentales ainsi que des bandes de combinaison. Ces bandes et principalement celles à 1450 et 1940 nm sont les deux pics d'absorptions les plus apparents sur le spectre des produits hydratés. C'est pourquoi, la relative simplicité du spectre de l'eau et son importante absorption ont permis de mener les études sur les déformations de ces bandes en relation avec l'hydratation des produits agroalimentaires [336].

L'apparition de nouvelles techniques d'analyse comme la spectroscopie de masse et la résonance magnétique nucléaire va freiner le développement des techniques infrarouges. Cependant, l'apparition des premiers microprocesseurs vont permettre d'utiliser l'interféromètre de Michelson puis de commercialiser les premiers spectrophotomètres à transformée de Fourier qui vont utiliser des outils comme la chimiométrie et la data mining permettant d'extraire des informations quantitatives à partir de spectres proches infrarouges

complexes. Ce type d'appareil permet de multiplier les techniques d'échantillonnages qui étaient jusque là basées sur la transmission vers des techniques de réflexion qui permet de réduire fortement les opérations de préparation des échantillons [334].

Aujourd'hui, la spectroscopie proche infrarouge s'est fortement développée dans des industries comme l'agroalimentaire et la pharmaceutique mais aussi le textile, les polymères... Elle est d'ailleurs devenue la méthode la plus utilisée pour le contrôle qualité.

## 4.2. Principe de fonctionnement

Pour bien saisir les principes de fonctionnement des spectrophotomètres proche infrarouge, il faut avant tout comprendre ce qu'est cette zone du spectre électromagnétique. Le proche infrarouge est une zone du spectre électromagnétique située entre le visible et le moyen infrarouge (Figure 47). Cette radiation de type électromagnétique, tout comme la lumière visible, se compose d'un champ magnétique et d'un champ électrique, perpendiculaires entre eux et au sens de propagation de la lumière et variant de façon sinusoïdale (Figure 46) [334]. Cette onde va se caractériser selon trois critères ;

- la longueur d'onde ( $\lambda$ ) qui décrit la distance en nanomètre (nm) parcourue pendant un cycle complet, soit par exemple la distance qui sépare deux minima ou maxima des vecteurs magnétique et électrique, soit  $\lambda = c/v$  ( $c =$  vitesse de la lumière dans le vide soit  $3 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ )

- le nombre d'onde ( $\sigma$ ) en  $\text{cm}^{-1}$  qui définit le nombre de cycle contenu dans un mètre, soit  $\sigma = 1/\lambda$

- la fréquence ( $f$ ) en Hertz qui décrit le nombre de cycle par secondes, soit  $f = c/\lambda$  [337].

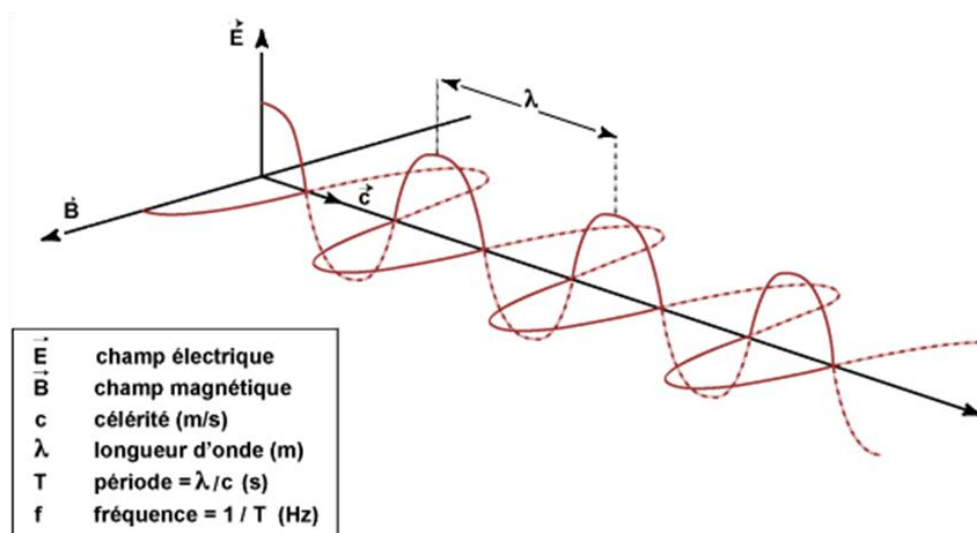


Figure 46 : Schéma d'une onde électromagnétique



La lumière n'est pas constituée uniquement de ces vecteurs énergétiques. En fait, l'onde magnétique est à la fois une onde mais aussi un corpuscule appelé photon. Ces derniers vont être porteurs d'une énergie ( $E = h \nu$  avec  $h$  (Constante de Planck) =  $6,62 \times 10^{-34}$ ) qui sera donc caractéristique de l'onde rencontrée. L'onde électromagnétique va donc se caractériser par une série discontinue de paquets d'énergie appelés « quantum » constitués par les photons [334, 335, 338, 339]. Ce sont ces particules qui vont permettre l'interaction de la lumière avec la matière puisqu'une molécule percutée par ce quantum va l'absorber sous forme d'énergie vibratoire pour le proche infrarouge. Cette vibration des atomes s'effectuera autour des axes formés par les liaisons chimiques. Sur le spectre proche infrarouge ce phénomène apparaîtra sous la forme de bandes d'absorption [335].

En tenant compte des paramètres physiques et des interactions avec la matière, les ondes électromagnétiques ont été divisées en différentes régions spectrales (Figure 47) ;

- les rayons X (0.01 à 10 nm) vont provoquer un réarrangement des couches électroniques profondes par excitation des électrons
- l'ultraviolet (10 à 400 nm) va être absorbé spécifiquement par les électrons  $\pi$  et  $p$  des couches de valence insaturées
- le visible (380 à 780 nm) met en jeu les mêmes phénomènes que l'ultraviolet, mais il permet également d'observer les molécules insaturées
- l'infrarouge (700 à 50000 nm) joue sur les phénomènes vibratoires des molécules
- les micro-ondes (0.1 à 30 cm) vont perturber la rotation des molécules
- les ondes radios (1 à 10000cm) est la zone de résonance magnétique nucléaire et de la résonance électrique des spins des noyaux atomiques [336, 337].

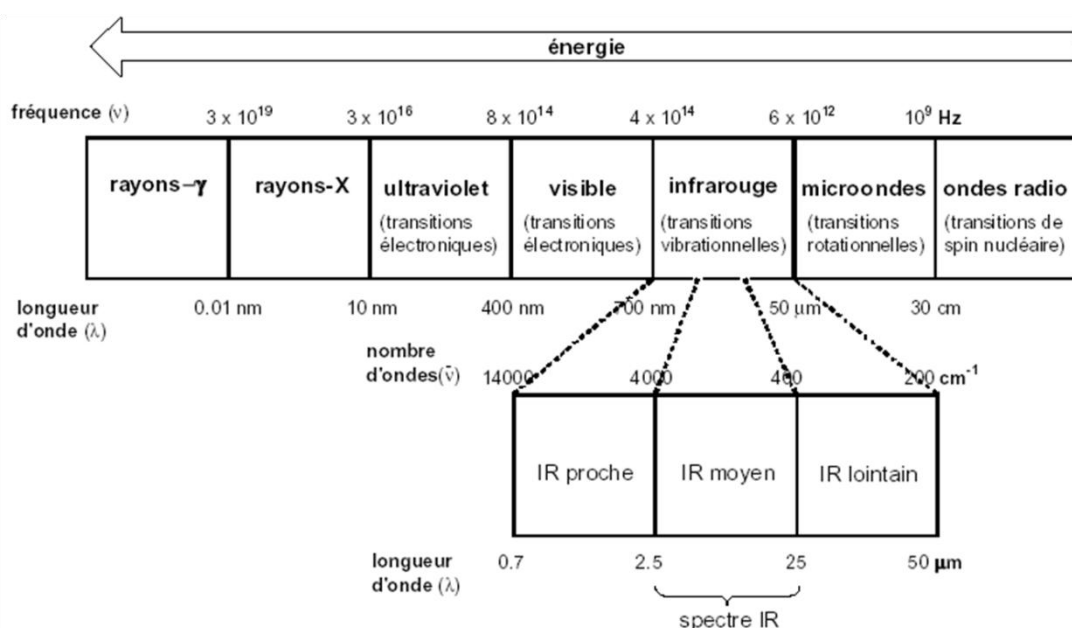


Figure 47 : Spectre électromagnétique (Bertrand, D. et Dufour, E., 2000)

La nature des absorptions du rayonnement proche infrarouge est directement liée à la composante de l'énergie mécanique total d'une molécule. En effet, celle-ci, à l'état isolé, est la somme des énergies de cinétique de la molécule et de vibration, de rotation et d'électronique de la liaison. A l'état le plus stable, la molécule possède une énergie la plus basse possible, elle est dite dans son état fondamental. Si celle-ci est un dipôle, lorsqu'elle est soumise à une variation du champ électrique en phase avec ces mouvements de vibration, une absorption d'énergie sera possible et la molécule entrera alors dans un état excité [334, 338-342]. Cet état excité se traduira par une vibration des liaisons de la molécule plus importante que lorsque celle-ci est dans son état fondamental. Ces niveaux d'énergie absorbables peuvent être calculés grâce au modèle anharmonique basé sur la loi de Morse qui va prendre en compte le déséquilibre des charges portées par les atomes de la molécule [337, 343, 344]. La résultante de cette excitation peut être de plusieurs natures (Figure 48).

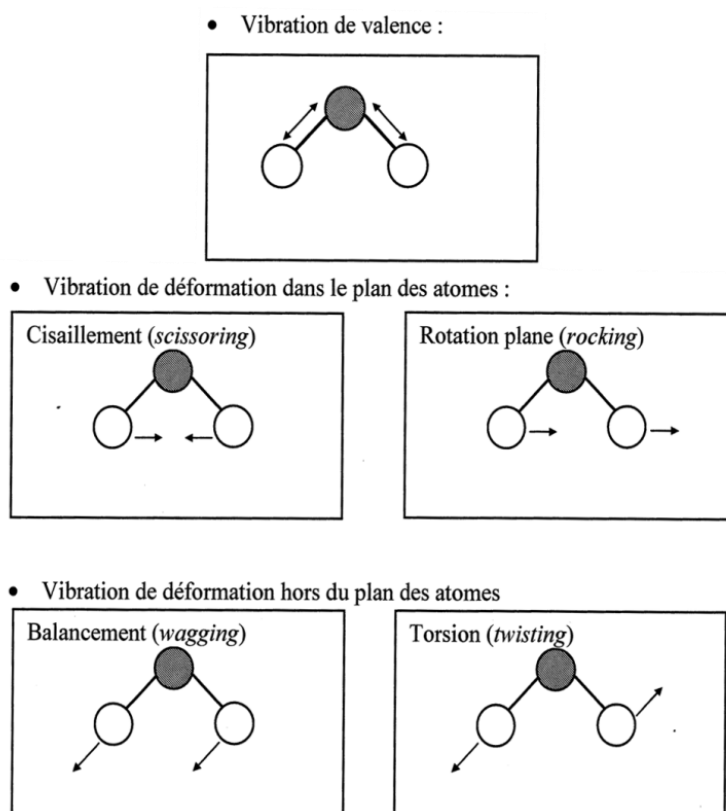


Figure 48 : Types de vibrations possibles des liaisons d'une molécule

Ces modes de vibration vont chacune absorber une partie du spectre proche infrarouge. Or, les molécules possèdent plusieurs liaisons diatomiques, c'est pourquoi ces différentes vibrations peuvent se produire au sein d'une même molécule. A ces bandes d'absorptions se rajoute des bandes dites de combinaison qui résultent des interactions de deux ou plusieurs modes de vibrations. Tout ces phénomènes vont rendre difficile l'interprétation direct des spectres, c'est pourquoi une application analytique doit être employée.

Les spectromètres proche infrarouge vont permettent l'analyse d'échantillons sous différentes formes (gazeuse, liquide, solide...) grâce à de très nombreuses technologies. En effet, schématiquement, ce type d'appareil se constitue d'une source lumineuse, d'un monochromateur et d'un détecteur. Les sources lumineuses peuvent être de type thermique (lampe tungstène-halogène, lampe de Nerst, lampe de Globar...), ou des diodes électroluminescentes ou encore des lasers [339, 345]. Le monochromateur peut être de type réseaux holographique ou interféromètre [335]. Les détecteurs sont basés sur les différences de potentiel engendrées par le rayonnement infrarouge. Ce peut être un thermocouple, un bolomètre pyroélectrique ou encore un détecteur photovoltaïque [339, 345]. Ensuite, en fonction de la nature de l'échantillon, plusieurs méthodes d'analyse peuvent être employées : les méthodes de transmission et de transflexion [337] pour les échantillons gazeux, liquides mais aussi solides mais non opaques au rayonnement infrarouge et les méthodes de réflexions principalement pour les solides (réflexion spéculaire (type métallique ou par réflexion-absorption), réflexion interne multiple (réflexion vitreuse, réflexion par technologie ATR...) ou encore par réflexion diffuse) [334]. Cette souple technologie permet l'analyse d'échantillons de nature très différente. La technologie employée dans cette thèse sera présentée dans un chapitre futur (cf chapitre 1, 4.4.).

Le traitement des spectres obtenus utilise les techniques de chimiométrie et de data mining. Ce sont l'ensemble des méthodes statistiques permettant d'extraire des informations quantitatives à partir de spectres proches infrarouges complexes. Ainsi, les spectres vont d'abord être transformés en une suite de nombre pour pouvoir être traités. A chaque nombre correspond une valeur du spectre en fonction d'une longueur d'onde. L'ensemble des nombres composent des vecteurs mais aussi une matrice (tableau de valeur). C'est à partir de cette matrice que les analyses multivariées vont pouvoir être faites. En statistique, les analyses multivariées ont pour caractéristique de s'intéresser à la distribution conjointe de plusieurs variables. On peut en identifier deux grandes familles : celle des méthodes descriptives (visant à structurer et résumer l'information) comme l'analyse en composantes principales (ACP), l'analyse factorielle des correspondances (AFC) ou le partitionnement de données, appelé usuellement *clustering* et celle des méthodes explicatives visant à expliquer une ou des variables dites « dépendantes » (variables à expliquer) par un ensemble de variables dites « indépendantes » (variables explicatives) comme l'analyse de régression multiple, l'analyse de la variance (ANOVA), l'analyse discriminante, ou les arbres de décision. Par exemple, pour des spectres proches infrarouges, la variable dite « dépendante » sera le vecteur traduisant la variation de l'ensemble des points du graphique le composant, alors que celle dite « indépendante » sera la variation de l'analyse chimique (les teneurs en ellagitannins du

bois par exemple) obtenue sur le même échantillon. Grâce à l'analyse multivariée effectuée sur ces échantillons étalons, l'analyse de nouveaux échantillons pourra être faite en suivant les équations obtenues.

### 4.3. Utilisation du proche infrarouge en industries agroalimentaires et pharmaceutiques

Très vite après la mise au point des spectrophotomètres infrarouges, les industriels ont compris l'intérêt de cette technique rapide avec une préparation d'échantillons minime. Dès 1962, la première application analytique en industrie agroalimentaire était mise au point. Celle-ci consistait à déterminer la teneur en eau des céréales [346]. Puis en 1972, l'infrarouge était utilisé pour l'analyse de routine des protéines du blé. Ces deux paramètres, mais plus généralement la composition chimique des matières agricoles, vont déterminer leur qualité et donc leur prix [336]. C'est pourquoi, depuis 1980, l'US Federal Grain Inspection Services (FGIS) utilise le proche infrarouge comme méthode officielle pour déterminer la qualité des grains. Par exemple, la teneur en eau est une des caractéristiques premières qui détermine la valeur du produit agroalimentaire (Figure 49). En effet, celle-ci est évaluée sur la base de la matière sèche, or les techniques d'analyses par dissécaction sont longues et destructives alors qu'un simple « scan » de la matière par proche infrarouge suffit. Le dosage de l'eau est donc l'application la plus utilisée en industries agroalimentaire. La déviation du spectre proche infrarouge de l'eau dans les aliments permet d'identifier plusieurs paramètres du produit. Par exemple, la diminution de la teneur en eau des fruits entraîne une diminution des intensités et une augmentation de la largeur des bandes d'absorption par rapport à l'eau pure. Le déplacement des bandes d'absorptions de l'eau est proportionnel au taux de chlorure de sodium (NaCl) contenu dans l'aliment, comme par exemple le jambon [335, 336].

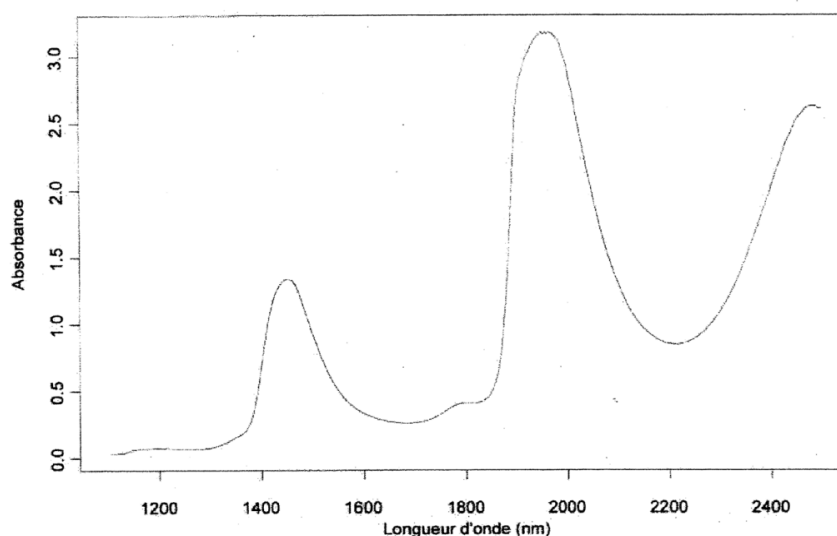


Figure 49 : Spectre proche infrarouge de l'eau

La composition en protéine va également avoir un rôle majeur par exemple sur la texture et la saveur du produit. Or, certaines chaînes latérales des acides aminés mais aussi les liaisons peptidiques et la conformation des protéines vont avoir des bandes d'absorption caractéristiques. Ainsi, l'observation de la modification de ces bandes caractéristiques permet, lors du processus de transformation de la matière première, le suivi de la dénaturation thermique des protéines [336].

La composition lipidique d'un aliment, d'un point de vue nutritionnel, est également importante. Or, la connaissance précise des caractéristiques spectroscopiques des lipides permet aujourd'hui d'établir leur composition dans l'ensemble des denrées alimentaires (céréales, produits laitier, viandes...). Ainsi, les teneurs en triglycérides et en phospholipides qui sont les lipides majoritaires, mais aussi leur degré d'insaturation jouent un rôle sur la santé. Par exemple, les oméga 3 et 6 qui sont des lipides polyinsaturés seraient bénéfiques pour la santé et joueraient un rôle dans la prévention des maladies cardio-vasculaires, de l'hypertension artérielle et ils auraient des effets contre la dépression contrairement aux acides gras saturés communément appelé « mauvaise graisse ». D'autres applications sur les acides gras peuvent être utilisées comme la détermination du degré d'oxydation des huiles (fraicheur) ou encore la substitution d'une huile par une autre dans les produits manufacturés [336].

Le contrôle de la composition en glucide ainsi que la conformation des polysaccharides comme l'amidon est également un domaine dans lequel le proche infrarouge aura une utilité.

L'analyse de ces différentes composantes est rendue possible grâce au proche infrarouge. Divers domaines qui vont de la sélection des lignées de plantes au domaine de la boulangerie et de la brasserie, utilisent aujourd'hui cette technologie. Ainsi, depuis la fin des années 70, les sélectionneurs utilisent les résultats obtenus par proche infrarouge sur la teneur en protéine et en eau des graines, leur rendement en farine, la proportion d'amidon endommagé... pour sélectionner les lignées végétales en fonction des besoins en boulangerie ou en brasserie. Ainsi, le meunier utilise le proche infrarouge pour doser les protéines et la teneur en eau des grains ou de la farine. Le boulanger va lui pouvoir contrôler la préparation de la pâte à pain alors que les brasseries suivent le degré d'alcool mais aussi l'azote total soluble et l'azote aminé libre durant la fermentation du malt, lui-même préalablement sélectionné par proche infrarouge sur les bases de la teneur en azote, lysine et glucanes [335, 336].

L'industrie laitière est également fortement impactée par les avancées en spectroscopie proche infrarouge. En effet, dans les années 60, le proche infrarouge est utilisé pour déterminer la teneur et la composition du lait (Figure 50 A) principalement pour les matières grasses et les protéines jusqu'à devenir aujourd'hui pratiquement la seule méthode utilisée. Là aussi, ces paramètres déterminent la conformité du produit ainsi que son prix. Le proche infrarouge permet d'améliorer et d'homogénéiser la fabrication des dérivés du lait comme le beurre mais surtout le fromage (Figure 50 B). Ainsi, il aide au suivi de la coagulation du lait et du décaillage qui jouent un rôle important sur les rendements et la qualité des produits finis en déterminant les temps optimaux de ces étapes [336].

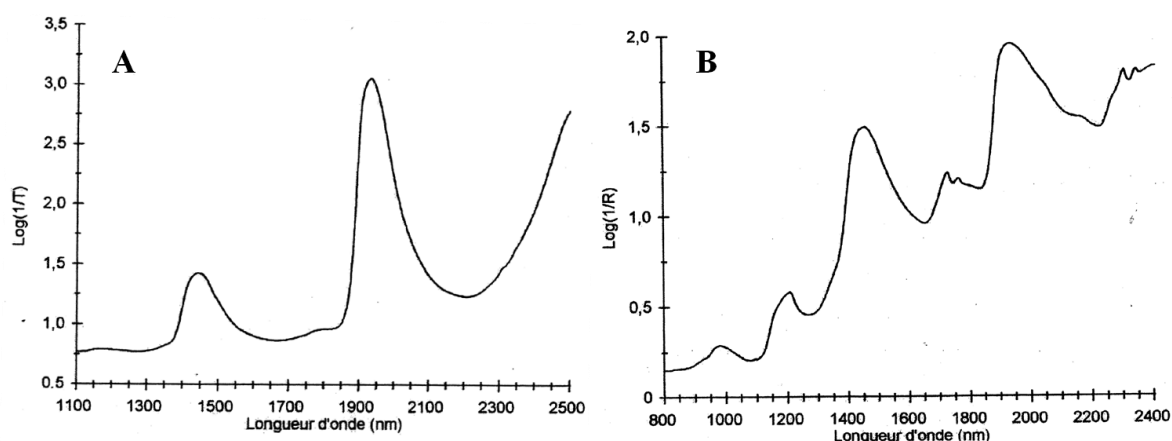


Figure 50 : spectre proche infrarouge du lait (A) et d'un produit fromager (B)

Bien plus tard, vers les années 90, ce fut au tour de l'industrie de la viande d'adopter le proche infrarouge pour mesurer la teneur en eau, en protéines et en lipides principalement pour la viande hachée [336].

D'autres domaines que l'alimentaire ont été conquis par le proche infrarouge. C'est entre autre le cas des industries pharmaceutiques où le temps passé à contrôler les produits est très important. Or, l'analyse en proche infrarouge est sans solvant toxique, rapide, possible dans le packaging final (les flacons en verre n'absorbant pas dans le proche infrarouge, gélules, comprimés...) et non destructive. Le proche infrarouge permet dans ce domaine d'identifier les produits et leur morphologie (granulométrie, polymorphisme, isoméris géométriques *cis/trans*...) [335, 347, 348].

Plus proche de notre sujet d'étude, l'infrarouge est aujourd'hui largement utilisé à la fois sur la vigne pour suivre la maturation des raisins, mais aussi pendant la vinification ou l'élevage pour suivre les fermentations des moûts et contrôler le produit final (le vin). En effet, l'entreprise FOSS commercialise depuis quelques années des appareils proches infrarouges permettant l'examen des vendanges ou des vins sur des paramètres tels que

l'acidité totale, l'acide malique, l'acide lactique, le pH, le glycérol, l'éthanol... Ces appareils sont également capables de déterminer la qualité sanitaire de la vendange en dosant des métabolites issus de microorganismes pouvant se développer sur les baies.

#### **4.4. Utilisation sur le bois destiné à l'œnologie ; Oakscan®**

Comme cité précédemment, la grande variabilité des teneurs en polyphénols des bois utilisés par la tonnellerie, a des impacts très importants pour les qualités organoleptiques des vins. La technique du proche infrarouge qui s'est développée ces dernières années, permet un contrôle de la composition de la matière avec une préparation d'échantillon limitée, une grande rapidité et un faible coût. Il est donc apparu essentiel de développer un nouvel outil proche infrarouge adapté à la classification des bois de tonnellerie ; Oakscan® afin d'homogénéiser les impacts du bois d'un même lot de barrique et d'adapter celui-ci au vin.

##### **4.4.1. Fonctionnement de l'appareil**

Le bois est un échantillon solide, opaque et avec une surface de type granuleuse. L'analyse de la composition de celui-ci sera donc effectuée grâce à la réflexion diffuse du rayonnement infrarouge (Figure 51). En effet, lorsque le rayonnement infrarouge incident vient frapper l'échantillon, il va être réfléchi dans toutes les directions de l'espace. Une partie du rayonnement incident va être réfléchi dans le plan d'incidence avec un angle identique à celui du rayonnement incident conformément aux lois de Descartes et de Fresnel, c'est le rayonnement réfléchi spéculaire (Figure 51). Une autre partie du rayonnement, appelé rayonnement réfléchi diffus, va subir une réflexion diffuse dans toutes les directions, dite réflexion de Fresnel, qui est due à la granulométrie de la matière (Figure 51). Ces deux premières composantes ne pénètrent pas la matière. Pour finir, une dernière composante dite de réflexion diffuse de Kubelta-Munk va être renvoyée vers le détecteur. Ce rayonnement pénètre au moins une particule puis est réfléchi dans toutes les directions de l'espace (Figure 51). C'est ce rayonnement qui va contenir le plus d'information sur la composition de la matière. Ce dernier, pour pouvoir être analysé, va devoir être isolé des deux premières composantes ; la réflexion spéculaire et la réflexion de Fresnel. La réflexion spéculaire va pouvoir être facilement éliminée grâce à l'observation du rayonnement réfléchi à 45° et à des jeux de miroir. Les artefacts dus au rayonnement de Fresnel vont être réduits grâce à l'analyse du background ou bruit de fond, lors de l'étalonnage de l'appareil [334, 349-354].

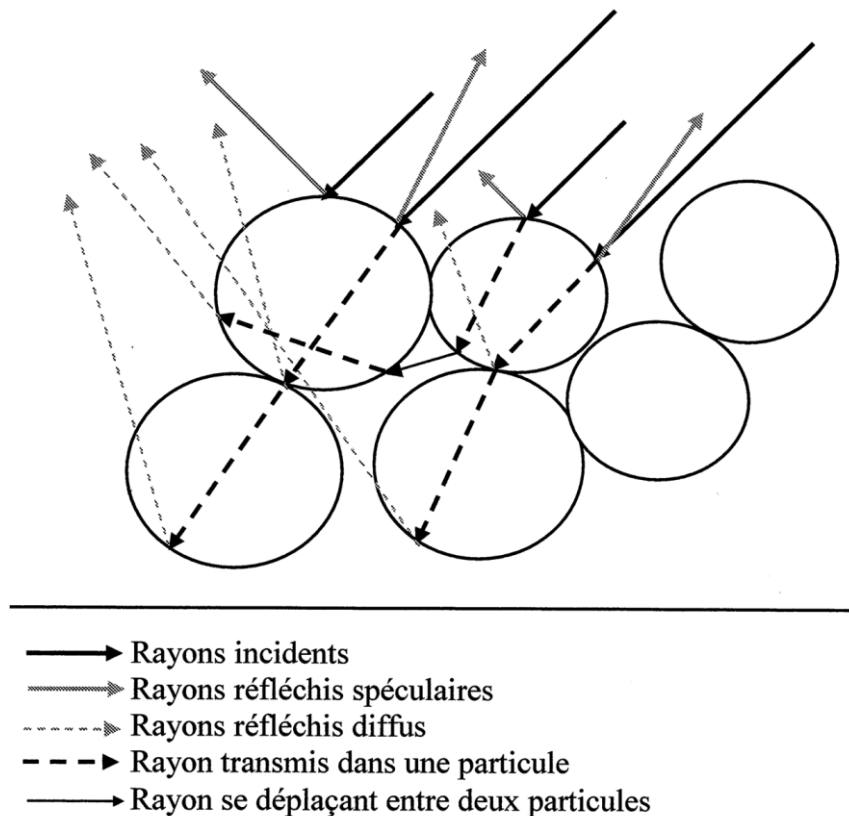


Figure 51 : Schéma de la réflexion diffuse

Ici, l'obtention des spectres proches infrarouges est effectuée juste après l'écourtage des douelles, soit après le séchage naturel des bois. Les douelles sont disposées sur un tapis roulant puis écourtées ce qui permet d'éliminer les zones avec des fentes et donc d'obtenir une surface homogène et propre qui va être scannée en plusieurs points par l'appareil proche infrarouge, Oakscan®. Puis pour déterminer la teneur en composés phénoliques et en ellagitanins de chaque douelle, les spectres obtenus vont être analysés par un modèle de régression mis au point lors de l'étalonnage de l'appareil [109].

#### 4.4.2. Etalonnage

La nature des échantillons de bois utilisés lors de l'étalonnage est d'une grande importance. En effet, pour avoir un étalonnage pertinent, celui-ci doit représenter l'ensemble de la diversité existante. C'est pourquoi, 400 merrains de chêne provenant de 33 lots de bois différents et classés suivant leur origine et leur grain ont été utilisés pour étalonner l'appareil. Ces échantillons ont ensuite été partagés en deux fractions ; l'une employée pour les analyses spectrales, l'autre pour les analyses chimiques dites de références [109].

Trois types d'analyses de références ont été utilisés pour construire le modèle de régression ; la densité optique à 280 nm, l'analyse des phénols totaux par le réactif de



Folin-Ciocalteu et les concentrations en ellagitanins (castalagine, vescalagine, grandinine et roburine E) par HPLC. Ces analyses ont été réalisées par le plateau technique Genobois de l'INRA d'Orléans [109]. La méthode de la densité optique à 280 nm quantifie les cycles benzéniques des groupements phénols mais aussi d'autres groupements chimiques. L'analyse colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu dose la quantité de cycles phénoliques grâce à leur oxydation par les acides phosphotungstiques et phosphomolybdiques qui sont réduits en oxydes bleus de tungstène et de molybdène. D'autres composés que les polyphénols comme les protéines ou les sucres peuvent également réagir. Cependant, ces derniers sont pratiquement absents du duramen. L'analyse HPLC, elle, quantifie spécifiquement la teneur de chacun des ellagitanins, principaux polyphénols extractibles. La deuxième fraction des échantillons a été scannée par Oakscan® pour récolter leur spectre infrarouge qui est ensuite comparé aux résultats des analyses chimiques. Ces analyses ont déterminé les équations du modèle de régression pour permettre l'analyse des concentrations en polyphénols de nouveaux échantillons uniquement à partir de leur spectre infrarouge. Les modèles de régression créés sont performants car la corrélation entre les méthodes de références et l'analyse proche infrarouge est forte puisque celles-ci ont un  $R^2$  de 0,81 et 0,84 respectivement pour l'analyse de Folin-Ciocalteu et pour le dosage par HPLC [109].

Cet étalonnage peut être directement utilisé dans un environnement contrôlé comme c'est le cas en laboratoire. Dans l'entreprise, Oakscan® est dans une ambiance où la température et l'humidité varient au cours du temps. Or ces variations vont influencer les spectres des échantillons que l'appareil enregistrera. En effet, ces spectres se composent en réalité de deux spectres ; le spectre à proprement parlé de l'échantillon et le spectre dû aux variations externes. C'est pourquoi une méthode EPO-PLS (external parameter orthogonalisation of Partial Least Square regression) [355] est utilisée en parallèle de la calibration citée auparavant. Cette méthode s'appuie sur la détermination des variations du spectre des échantillons en fonction des variations des paramètres externes (température, humidité...) [356]. Par orthogonalisation des spectres obtenus à partir d'un même échantillon mais dans différentes ambiances, un modèle correctif des valeurs tenant compte des paramètres externes peut être appliqué à la matrice du spectre des échantillons inconnus [355].

## **5. Conclusion générale**

Les teneurs en extractible du bois sont très variables et dépendent à la fois de l'espèce, de l'âge, de l'origine, du grain et de la position de la pièce de bois dans l'arbre. Les ellagitanins, appartenant à la famille des tanins hydrolysables, représentent la majorité des composés qui vont être extraits par le vin lors de l'élevage de celui-ci au contact du bois de chêne (staves, tonneaux...). De plus, les différents traitements des bois œnologiques lors de la fabrication des tonneaux ou des staves (séchage, chauffe...) augmentent cette variabilité en teneurs d'ellagitanins. Or, plusieurs études ont récemment montré une implication des ellagitanins dans de nombreuses réactions chimiques avec les composés du vin (tanins, anthocyanes...) pour donner de nouvelles molécules (acutissimines, épiacutissimines, flavano-ellagitanins...). Plus récemment, les ellagitanins se sont révélés avoir des impacts gustatifs sur l'astringence et l'amertume des vins. C'est pourquoi, leurs rôles dans les caractéristiques organoleptiques des vins ne peuvent être ignorés. Néanmoins, les méthodes de classification des bois de chêne œnologiques ne permettaient pas jusqu'à aujourd'hui de classer les bois en fonction de leurs caractéristiques chimiques et donc en fonction de leurs teneurs en ellagitanins. À la vue de ces différents points soulevés, la tonnellerie RADOUX a décidé de mettre en place au sein de leur chaîne de fabrication un appareil NIRS, Oakscan®, permettant de classer chaque douelle en fonction de leur IP et plus précisément, de leur teneur en ellagitanins. Le but de cette classification est de déterminer la quantité d'extractibles du bois de chêne apportée au vin afin de sélectionner les bois optimaux pour chaque vin. Notre travail est donc centré sur l'étude des répercussions de la classification des bois et donc des concentrations en ellagitanins au niveau de la chimie du vin et de ces propriétés organoleptiques.

## **Chapitre 2 : Matériels et méthodes**

# **1. Description du matériel**

## **1.1. Extracteur solide/liquide**

Les extractions solide/liquide effectuées sur la poudre de bois de chêne sont réalisées grâce à un ASE<sup>®</sup> 350 (Dionex corporation, 08060961). Cet extracteur permet de travailler sous atmosphère inertée à l'azote, sous pression (150 bars) et à une température contrôlée. Il peut également procéder à des extractions séquentielles sur un ou plusieurs échantillons. L'extraction sous pression permet d'accélérer de manière importante l'extraction des composés solubilisables du bois de chêne par le solvant choisi et cela avec un volume de solvant réduit (environ 40 mL).

## **1.2. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)**

Plusieurs systèmes HPLC ont été utilisés en fonction des composés recherchés.

Les analyses des bois et des vins après hydrolyse ainsi que l'analyse des anthocyanes des vins sont faites sur une UPLC (Ultra Pressure Liquid Chromatography) Thermo scientific Accela (Thermo, Electron Corporation) possédant un module de pompe (Accela 600 pump, 920175), un passeur d'échantillons (Accela autosampler, 750466) et un détecteur à barrette de diode (Accela PDA, 930079). Ces modules peuvent être couplés en série à un spectromètre de masse (MS) Thermo Scientific (MSQ Plus, MSQ20808) équipé d'une source d'ionisation de type électrospray. Ce dernier module permet de confirmer l'identité des pics. Les paramètres optimaux de détection de l'acide ellagique sont une température et un voltage du capillaire de 450°C et de 4,5 V, une tension de cône de -50 V et un débit de gaz nébuliseur de 5 L/min. L'ensemble des modules sont pilotés par le logiciel Xcalibur (2.0).

L'analyse des bois non hydrolysés dans le but de déterminer la composition en ellagitanins moléculaires est réalisée sur une HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) Hewlett-Packard série 1100 (Hewlett-Packard /Agilent technologies) comprenant un module de pompe (Hewlett-Packard 1100, G1312A), un passeur d'échantillons (Hewlett-Packard 1100, G1313A) et un détecteur UV-Vis (Hewlett-Packard 1100, G1314A). Le système est piloté par le logiciel d'acquisition Masslynx 4.0.

Les analyses des vins non hydrolysés dans le but de déterminer la composition en ellagitanins moléculaires ainsi que des tanins provenant du raisin sont effectuées sur une HPLC Thermo-Finnigan série Surveyor (Thermo, Electron Corporation) composée d'un

module de pompe (Surveyor LC pump Plus, 82026), d'un passeur d'échantillons (Surveyor autosampler Plus, 82067) et d'un détecteur à barrette de diodes (Surveyor PDA Plus, 81021). Ces modules sont couplés en série pour l'analyse des ellagitanins à un spectromètre de masse (MS) Thermo-Finnigan LCQ Advantage spectrometer équipé d'une trappe à ion et d'une source d'ionisation de type électrospray. Les paramètres optimaux de détection déterminés utilisent une ionisation en mode négatif, une température et un voltage de capillaire de 300°C et de 5 kV, une tension de cône de -46 V, un débit de gaz nébuliseur de 1 L/min et un débit de gaz pour la désolvatation de 0,25 L/min. L'ensemble des modules sont pilotés par le logiciel Xcalibur 2.0. Pour l'analyse des tanins, les modules HPLC sont couplés à un détecteur fluorimétrique Thermo Scientific Finnigan (FL Plus detector, 81013) piloté par le logiciel ChromQuest 4.2.34.

### **1.3. Spectrophotométrie UV-visible et proche infrarouge**

Les analyses spectrophotométriques sont réalisées sur un spectrophotomètre Jenway 6305 (Jenway Corporation), permettant de travailler, grâce à une lampe au xénon, en mode double faisceau sur une plage de longueurs d'ondes allant de 190 à 1000 nm avec une bande passante de 6 nm.

Seule l'analyse des polyphénols totaux grâce au réactif de Folin-Ciocalteu est réalisée sur un appareil BMG Labtech (FLUO star Omega, S/N 415-0817) qui permet la lecture des absorbances sur plaques (96 puits).

Les analyses infrarouges sont réalisées sur un FOSS Winescan 79000 (FOSS Nanterre) qui est un appareil proche infrarouge à transformé de Fourier piloté par le logiciel Foss integrator 1.5.3.

### **1.4. Réactif**

L'eau distillée est obtenue grâce à un système ELGA puis purifiée en eau Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA) en utilisant un système Sarterius-arium 611. Le méthanol (HPLC  $\geq$  99%), l'acide L-tartrique ( $\geq$  99%), l'ammoniaque (27%), l'acide chlorhydrique (37%) et le bisulfite de sodium (97%) sont achetés chez Prolabo-VWR (Fontenay-sous-Bois, France). L'acétone (HPLC  $\geq$  99%) est acheté chez Xilab (Atlantic labo, Bordeaux, France). Le métabisulfite de sodium, l'acide ellagique, l'acide formique ( $>$  95%), le 1-naphtanol ( $>$  99%), la (+)-catéchine ( $\geq$  98%), l'(-)-épicatéchine ( $\geq$  98%), l'(-)-épigallocatechine ( $\geq$  98%), l'(-)-épicatéchine gallate ( $\geq$  98%), le phosphate d'ammonium (98,5%) sont achetés

chez Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Les dimères B1 [(-)-épicatéchine-(4-8)-(+)-catéchine] ( $\geq 98\%$ ) et B2 [(-)-épicatéchine-(4-8)-(-)-épicatéchine] ( $\geq 98\%$ ), la cyanidine-3-*O*-glucoside ( $\geq 98\%$ ), la delphinidine-3-*O*-glucoside ( $\geq 98\%$ ) et la malvidine-3-*O*-glucoside ( $\geq 98\%$ ) sont achetés auprès d'Extrasynthèse (Genay, France). La pétunidine-3-*O*-glucoside ( $\geq 98\%$ ) est fournie par le laboratoire des Polyphénols (Laboratory Polyphenols, Norvège). Les dimères B3 [(+)-catéchine-(4-8)-(+)-catéchine] et B4 [(+)-catéchine-(4-8)-(-)-épicatéchine] ainsi que le trimère (T) [(+)-catéchine-(4-8)-(+)-catéchine-(4-8)-(-)-épicatéchine] sont synthétisés au sein du Laboratoire : Institut des Sciences Moléculaires (ISM) de l'Université Bordeaux 1 [357].

## 1.5. Vins utilisés

Afin d'observer les cinétiques d'extractions des ellagitanins ainsi que leurs répercussions organoleptiques sur les vins, ces derniers sont choisis de manière à provenir de différentes appellations, de plusieurs cépages et subissant des pratiques de vinifications différentes (Tableau 2).

Chapitre de thèse	Appellations	Cépages/Assemblages	Millésimes	Nombre de mois d'élevage	IPT vin	Type d'élevage	Contenances (L)	Chauffe (temps/T°)	Cinétique des prélèvements	Cinétique des dégustations
3. 1.	Malepère	CS/Merlot (50/50)	2008	4	60	Cuve avec staves	300	80 / 280	Mensuelle	Mensuelle
3. 2.	Malepère	CS/Merlot (50/50)	2010	5,5	66.1	Cuve avec staves	300	80 / 280	Fin d'élevage	Fin d'élevage
3. 2.	Malepère	CS/Merlot (50/50)	2010	5,5	52.2	Cuve avec staves	300	80 / 280	Fin d'élevage	Fin d'élevage
4. 1.	Pessac - Léognan	CS	2009	24	52.71	Barriques	225	75 / <230	Mensuelle	Tous les 6 mois
4. 2.	Paulliac	CS/Merlot (70/30)	2009	15	61.25	Barriques	225	80 / 280	Tous les 6 mois	Tous les 6 mois
4. 3.	Montagne St-Emilion	Merlot	2009	18	68.51	Barriques	225	60 / 230	Tous les 6 mois	Tous les 6 mois
5. 1.	St-Emilion	Merlot	2009	12	61.25	Barriques	225	75 / 280	Tous les 6 mois	Tous les 6 mois
5. 2.	Limoux	CS/Merlot/Syrah	2009	12	65.43	Barriques	300	75 / 280	Tous les 6 mois	Tous les 6 mois
6. 1.	Médoc	CS/Merlot/Verdot	2009	6	77	Barriques	225	60 / 230	Fin d'élevage	Fin d'élevage
6. 1.	Médoc	CS/Merlot/Verdot	2009	6	84	Barriques	225	60 / 230	Fin d'élevage	Fin d'élevage
7. 1.	Pessac - Léognan	CS/CF (93/7)	2011	En cours	67	Barriques	225	60 / 230	Mensuelle	Tous les 6 mois
4. 4.	Saint Foy-Bordeaux	Sauvignon blanc	2009	6	8	Barriques	225	60 / 230	Fin d'élevage	Fin d'élevage

Tableau 2 : Liste des vins utilisés et principales caractéristiques du type d'élevage et de la cinétique des prélèvements

## 2. Analyses des bois

### 2.1. Sélection des échantillons

Les échantillons de bois sont constitués des deux principales essences Européenne de *Quercus*, *Quercus robur* et *Quercus petraea* provenant de différentes régions de France (Ardennes, Bas-Rhin, Haute-Saône...) (Tableau 3). Les merrains sont stockés pendant

18 mois à l'air libre sur le site de la tonnellerie Radoux (Jonzac, France). Une fois que leur humidité relative (H.R.) est inférieure à 15%, ils subissent plusieurs opérations de sciage pour leur donner une forme leur permettant d'être assemblé en barrique dont la première est l'écourtage. C'est lors de ce travail qu'une des écourtures est récupérée puis numérotée de manière à l'affilier à la douelle correspondante. Ces écourtures sont ensuite repassées manuellement devant le détecteur proche infrarouge pour y être scannées sur 17 à 61 points ce qui permet d'affiner la classification des douelles en fonction de leur indice polyphénolique calculé par Oakscan® (cf chapitre 1, 4.4.). Cet indice polyphénolique résulte de la combinaison linéaire de trois mesures prédites par le spectre proche infrarouge d'Oakscan® pour lesquelles il avait été préalablement étalonné. Ces analyses chimiques ayant permis d'étalonner Oakscan® sont ; l'absorbance à 280 nm, l'indice de Folin-Ciocalteu et la concentration en ellagitanins déterminée après hydrolyse acide (cf chapitre 1, 1.6.3.) [109]. Grâce à cette classification, les barriques servant aux essais disposent d'un indice polyphénolique moyen (IP) significativement différent. La description des caractéristiques polyphénoliques, de grain, de contenance et de chauffe aromatique des barriques utilisées dans les plans d'essais sont donnés dans le tableau ci-dessous.

Chapitre de thèse	Appellations	IP (moyenne/Classe)	Nombres d'échantillons	Grains	Provenance
3, 1.	Malepère	13 ± 2,6	7	Fin	Vosges
3, 1.	Malepère	32 ± 7,2	7	Fin	Vosges
3, 1.	Malepère	50 ± 9,8	7	Fin	Vosges
4, 1.	Pessac - Léognan	21,07 ± 5,45	15	Fin	Ardennes, Bas-Rhin, Haute-Saône
4, 1.	Pessac - Léognan	26,02 ± 5,72	15	Fin	Ardennes, Bas-Rhin, Haute-Saône
4, 1.	Pessac - Léognan	39,03 ± 6,00	15	Fin	Ardennes, Bas-Rhin, Haute-Saône
4, 1.	Pessac - Léognan	55,12 ± 4,89	13	Fin	Ardennes, Bas-Rhin, Haute-Saône
4, 1.	Pessac - Léognan	70,15 ± 3,09	12	Fin	Ardennes, Bas-Rhin, Haute-Saône
4, 2.	Paulliac	11,93 ± 7,86	15	Fin	France
4, 2.	Paulliac	30,36 ± 5,75	11	Fin	France
4, 2.	Paulliac	40,31 ± 5,79	11	Fin	France

Tableau 3 : Liste des échantillons de bois analysés

## 2.2. Broyage

Les écourtures de bois par leur nature solide et partiellement imperméable, ne peuvent être analysées directement. Celles-ci doivent au préalable être rabotées à température ambiante à l'aide d'un rabot électrique (Makita n1923b), puis broyées en une fine poudre (granulométrie  $< 0,6$  mm) à l'aide d'une broyeuse Mill- Retsch bioblock pour permettre l'extraction de la totalité des ellagitanins extractible. Cette poudre est ensuite stockée au sec et dans le noir afin d'éviter toute photodégradation (Figure 52).



Figure 52 : Broyage d'écourtures de chêne

## 2.3. Extraction solide/liquide

L'extraction de la poudre de bois est réalisée grâce à un ASE<sup>®</sup> 350 (Dionex corporation, 08060961). Cet appareil permet de faire des extractions beaucoup plus rapides que celles obtenues par simple agitation. En effet, les extractions sont réalisées sous une pression de 150 bars ce qui permet au solvant de pénétrer plus rapidement à l'intérieur des fibres du bois et d'en extraire la fraction extractible du bois. Néanmoins, l'utilisation de cet appareil a nécessité l'adaptation des méthodes d'extraction couramment utilisées utilisant une simple agitation à pression ambiante pendant plusieurs heures.

Plusieurs paramètres peuvent être modifiés tels que le nombre d'extraction effectué sur l'échantillon, la température d'extraction, le solvant d'extraction et le static time (temps pendant lequel le solvant à l'intérieur de la cellule d'extraction est à une pression constante d'environ 150 bars et à température choisie). Le test de plusieurs températures (20, 40, 60 et 80°C) a montré que la quantité d'ellagitanins extraite de copeaux de bois de chêne au bout de 10 extractions augmentait proportionnellement avec la hausse des températures jusqu'à 80°C [358]. L'allongement du static time de 4 à 8 min permet également d'augmenter la quantité d'ellagitanins extraite. Par ailleurs, avec un static time de 8 min, la masse extraite est la même



que l'extraction se soit déroulée à 60 ou 80°C. Enfin, deux solvants d'extraction ont été testés ; acétone/eau (70/30) et méthanol/eau (70/30). Comme relaté par Vivas *et al.* [359], le solvant acétone/eau permet d'obtenir le meilleur extrait, plus riche et pur en ellagitanins. Les conditions d'extraction retenues sont donc une température de 60°C, un static time de 8 min et un solvant se composant d'acétone et d'eau (70/30) [358].

Malgré ces conditions, au bout de 16 extractions, les ellagitanins de copeaux de bois ne sont pas totalement solubilisés. Une étude sur l'extraction des ellagitanins en fonction de la granulométrie de la poudre de bois est donc menée. Un échantillon de bois est broyé puis tamisé pour obtenir des poudres de différentes granulométries ( $x > 2$  mm,  $2 > x > 0,6$  mm,  $0,6 > x > 0,25$  mm,  $0,25 > x > 0,15$  mm,  $0,15 \text{ mm} > x$ ). Les résultats montrent que la quasi-totalité des ellagitanins (> 95%) est extraite au bout de 6 extractions pour les poudres de granulométrie inférieure à 0,6 mm (Figure 53). Ces deux paramètres, 6 extractions sérielles et une poudre de granulométrie de 0,6 mm, sont donc retenus en complément des modalités d'extraction réglées sur l'appareil pour extraire les ellagitanins du bois.

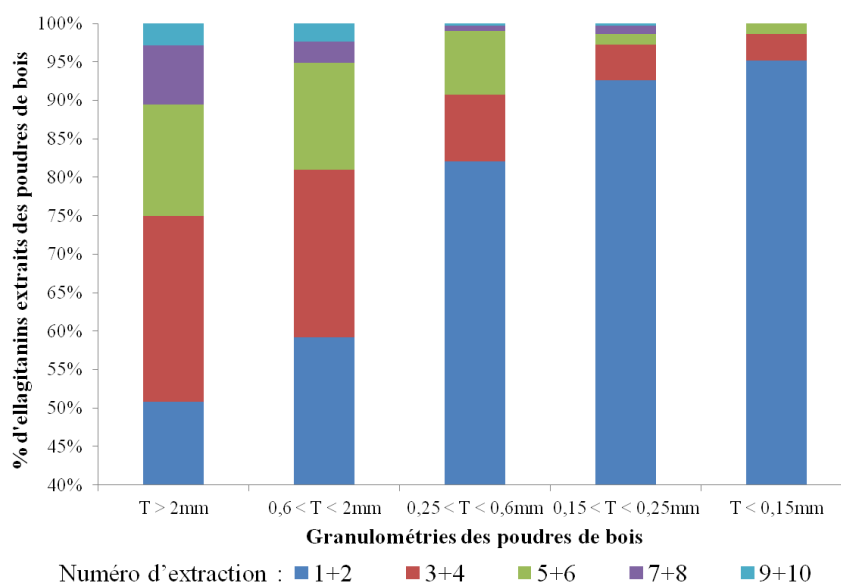


Figure 53 : Cinétique d'extraction des ellagitanins en fonction de la granulométrie des poudres de bois

L'extraction de 95% des ellagitanins des bois utilisés durant cette thèse est donc effectuée grâce à 6 extractions en série faites à l'aide d'acétone/eau (70/30), à une température de 60°C, sous atmosphère inerte et 150 bars de pression et avec un static time de 8 min sur du bois préalablement broyé afin d'obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 0,6 mm [116].

Les six extractions d'un échantillon sont ensuite assemblées puis évaporées à sec sous pression réduite à 30°C grâce à un évaporateur rotatif pour enfin être reprises dans de l'eau

milliQ à l'aide d'un sonicateur. Après congélation, ces extraits aqueux riches en ellagitanins sont placés au lyophilisateur afin d'obtenir une poudre anhydre dans laquelle les ellagitanins sont protégés des réactions d'oxydation. Ces extraits de bois sont ensuite conservés au sec et à l'abri de la lumière.

En suivant les recommandations de la norme AFNOR (AFNOR NF EN 482) [360] et afin de déterminer la répétabilité de la méthode d'extraction (Tableau 4), un échantillon est extrait le même jour en triplicata dans le but d'observer la variabilité de l'extraction. Pour déterminer la reproductibilité, ces mêmes échantillons sont extraits plusieurs fois avec une semaine d'écart. Les extraits sont ensuite analysés par hydrolyse acide le même jour. La même méthode est appliquée pour toutes les analyses effectuées dans cette thèse.

Composés	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse [M-H]
Acide ellagique	2,77	4,56	301

Tableau 4 : Répétabilité et reproductibilité de la méthode d'extraction

## 2.4. Dosage des ellagitanins totaux par hydrolyse acide

### 2.4.1. Hydrolyse acide

L'hydrolyse acide permet de doser l'acide ellagique formé suite au clivage puis à la réorganisation spontanée du groupement 4,6-hexahydroxydiphenyle des ellagitanins. Ce phénomène intervient spontanément dans le vin (cf chapitre 1, 1.6.3.) mais est ici accéléré en plaçant notre extrait de bois dans des conditions thermique et acide importantes [171]. Pour cela, 10 mg d'extrait de bois lyophilisé sont dissous à l'aide d'un sonicateur dans 2 mL de méthanol supplémenté en naphtanol à 1 g/L. Le naphtanol qui sert d'étalon interne dans le but de s'affranchir des variations de volume durant le protocole (principalement lors de la chauffe), est une molécule résistante aux conditions d'hydrolyse des ellagitanins (2 h à 100°C en présence de 2,42 mol/L d'HCl). 0,1 mL de cette solution sont alors placés dans quatre tubes à essais avec 3,9 mL de méthanol et 1 mL d'HCl 37%. Ces tubes sont fermés hermétiquement par des bouchons à vis munis d'un joint en téflon puis placés 2 h à 100°C dans un bain marie. Parallèlement, afin de déterminer l'acide ellagique présent dans le bois suite par exemple à la dégradation des ellagitanins durant le séchage des bois, deux tubes témoins ne subissant pas d'hydrolyse sont constitués avec 0,02 mL de solution méthanolique d'extrait de bois et 1 mL de méthanol. Après hydrolyse, les tubes sont laissés à l'air libre pour

refroidissement puis, trois tubes à hydrolyse et deux tubes témoins sont vortexés, filtrés à 0,45 µm puis placés dans des vials sertis pour l'analyse UPLC.

### 2.4.2. Analyse UPLC-UV-MS

La quantification de l'acide ellagique est effectuée sur une UPLC Thermo scientific Accela équipée d'une colonne Hypersil GOLD (50 x 2,1 mm, 1,9 µm) à travers laquelle les solvants circulent à un débit de 0,3 mL/min. Le solvant A utilisé correspond à de l'eau milliQ à 0,4% d'acide formique alors que le solvant B est du méthanol à 0,4% d'acide formique. Ces deux solvants permet de quantifier l'acide ellagique grâce à un gradient d'élution adapté (Tableau 5) et à l'équation de régression linéaire d'une gamme étalon faite grâce à 2 pesées et 6 concentrations d'acide ellagique (200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 mg/L) injectées trois fois. Après l'injection de 5 µL d'extrait de bois hydrolysé, la quantification de l'acide ellagique se réalise à 370 nm alors que celle du naphtanol se passe à 280 nm. L'identification des pics peut être confirmée grâce à un spectromètre de masse monté en série et réglé en mode négatif à  $m/z = 301$  pour l'acide ellagique et en mode positif à  $m/z = 145$  pour le naphtanol. Les seuils de détection et de quantification de l'acide ellagique ainsi que la répétabilité et la reproductibilité de la méthode sont évaluées selon la recommandation de la résolution OIV OENO 7/2000 (Tableau 6).

Temps (min)	0	1	4	5	6	7	9	10	12
% de solvant A	100	65	60	30	20	0	0	100	100
% de solvant B	0	35	40	70	80	100	100	0	0

Tableau 5 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage de l'acide ellagique d'un extrait de bois

Composé	Limite de détection (mg/L)	Limite de quantification (mg/L)	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse [M-H]
Acide ellagique	3,35	14,51	0,95	2,25	301

Tableau 6 : Limites de détection et de quantification de l'acide ellagique, répétabilité et reproductibilité de la méthode UPLC-UV

La limite de détection traduit la plus petite concentration de l'analyte pouvant être détectée avec une incertitude acceptable qui se traduit par un risque d'identification d'un pic ne correspondant pas à l'analyte inférieur à 0,13%. Elle est calculée grâce à la formule :

$$L_D = 3 \times h \times R$$

La limite de quantification définit la plus petite teneur en analyte pouvant être quantifiée, avec une incertitude acceptable, soit un risque de mesurer un pic n'étant pas l'analyte inférieur à 0,5‰. Elle se calcule grâce à la formule :

$$L_Q = 10 \times h \times R$$

h étant l'amplitude maximum du bruit de fond autour du temps de rétention du composé sur une fenêtre correspondant à 10 largeurs à mi-hauteur du pic de l'analyte de part et d'autre.

R étant le facteur de réponse (quantité/signal) qui se calcule grâce au chromatogramme par la formule :

$$R = \text{Concentration en composé de la solution injectée} / \text{hauteur du pic de l'analyte}$$

## 2.5. Dosage des ellagitanins moléculaires

Le dosage moléculaire des ellagitanins consiste à quantifier les huit ellagitanins du bois (castalagine, vescalagine, grandinine, roburine A, roburine B, roburine C, roburine D, roburine E) en analysant chaque pic correspondant (Figure 54). Pour cela, 10 mg d'extrait de bois lyophilisé sont repris dans 2 mL d'eau milliQ puis filtrés à 0,45 µm pour l'analyse HPLC.

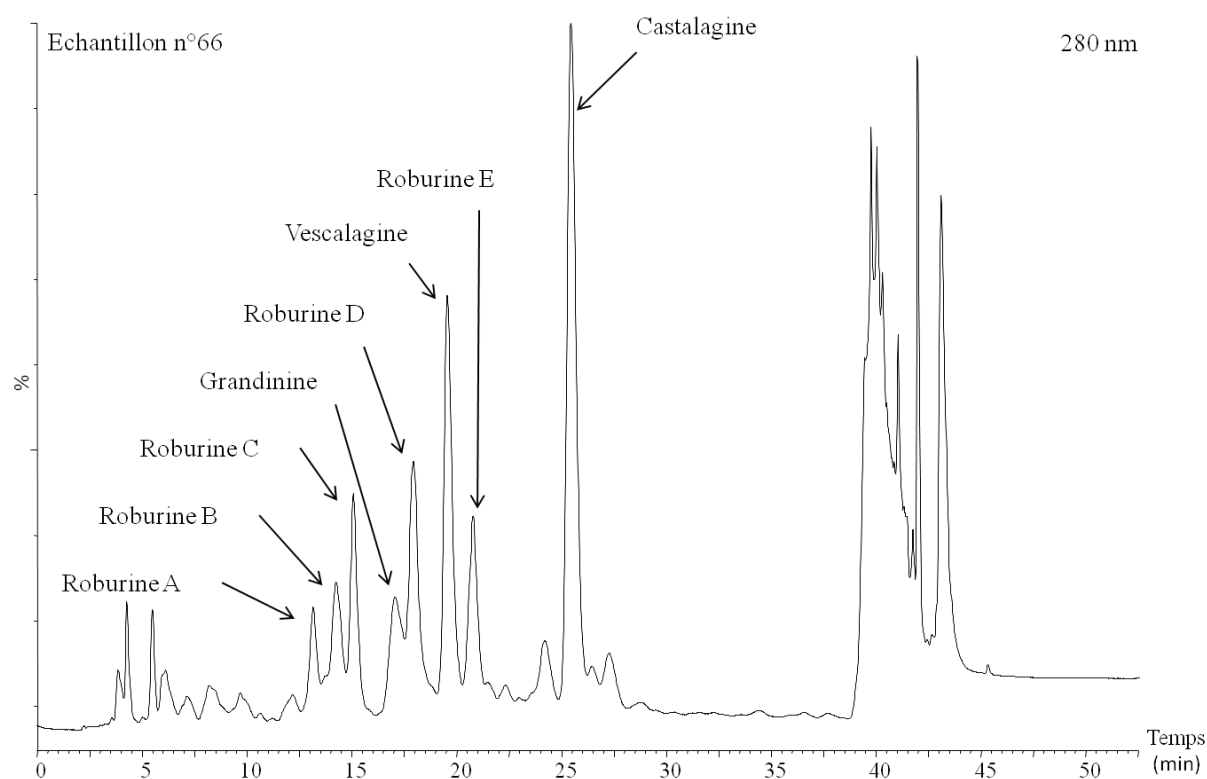


Figure 54 : Chromatogramme HPLC-UV d'un extrait d'échantillon de bois de chêne

La quantification des ellagitanins s’effectue sur une HPLC Hewlett Packard série 1100 équipée d’une colonne Lichrospher 100 RP 18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) à travers laquelle les solvants circulent à un débit de 1 mL/min. Le solvant A utilisé est de l’eau milliQ à 0,4% d’acide formique alors que le solvant B est constitué de méthanol à 0,4% d’acide formique. Ces deux solvants permettent de séparer et quantifier les ellagitanins grâce à un gradient d’élution adapté (Tableau 7). La quantification se réalise par intégration des pics des huit ellagitanins à 280 nm après l’injection de 40 µL d’échantillon. Les concentrations sont calculées grâce à la gamme étalon de la vescalagine dont les concentrations (200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 mg/L) sont injectées trois fois chacune. Les limites de détection et de quantification sont évaluées par la méthode OIV OENO 7/2000 (Tableau 8).

Temps (min)	0	5	39	44	54	55	59
% de solvant A	100	100	94	0	0	100	100
% de solvant B	0	0	6	100	100	0	0

Tableau 7 : Gradient d’élution utilisé pour le dosage des 8 ellagitanins d’un extrait de bois

Composé	Limite de détection (mg/L)	Limite de quantification (mg/L)	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse [M-H]
Vescalagine	3,99	13,31	3,05	4,73	933

Tableau 8 : Limite de détection et de quantification de la vescalagine sur l’HPLC-UV Hewlett Packard

### **3. Analyses des vins**

#### **3.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux est basé sur la capacité de ces derniers à être oxydés par un mélange d’acides phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) appelé couramment réactif de Folin-Ciocalteu. Ces derniers sont réduits en oxydes de couleur bleu dont le maximum d’absorption est à 760 nm. Cette réduction se fait en deux étapes ; une phase rapide de 30 min conduisant à la couleur bleu suivie d’une phase plus lente pendant laquelle la couleur évolue vers le bleu foncé. La concentration en composés phénoliques se détermine à la fin de la phase rapide et s’exprime en équivalent acide gallique [361].

Pour ce dosage, un protocole adapté au spectrophotomètre BMG Labtech (FLUO star Omega, S/N 415-0817) à lecteur de plaque est utilisé. Dans chaque puits, 20 µL d’échantillon de vin (dilué au 1/20<sup>ème</sup> pour les vins rouges riche en polyphénols, 1/10<sup>ème</sup> pour les vins rouges moins concentrés en polyphénols et sans dilution pour les vins blancs) sont placés et

additionnés de 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10<sup>ème</sup> et de 80 µL de solution de carbonate de sodium (75 g/L). Pour chaque plaque, une gamme étalon d'acide gallique en six points tripliqués (200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 mg/L) est réalisée. La plaque est laissée 30 min à l'air libre avant sa lecture à 760 nm par l'appareil. Le calcul de la concentration est réalisé en tenant compte du coefficient de dilution des vins et de la droite de régression de la gamme étalons réalisée.

### **3.2. Dosage des tanins totaux**

Ce dosage est basé sur la propriété des proanthocyanidines à se transformer, par clivage de la liaison interflavane en milieu acide et à 100°C, en anthocyanidines colorées (jaune-vert) absorbant principalement à 550 nm. Cette réaction est communément appelée réaction de Bate-Smith [189, 362].

Pour cela, 2 mL d'échantillon de vin dilué au 1/50<sup>ème</sup> sont placés dans un tube à hydrolyse avec 1 mL d'eau distillée et 3 mL d'acide chlorhydrique (12N ou 37%). Puis le tube est fermé à l'aide d'un bouchon muni d'un joint en téflon et placé au bain marie à 100°C pendant 30 min. Parallèlement, un tube témoin contenant la même solution est laissé à température ambiante. Après refroidissement du tube hydrolysé, 0,5 mL d'éthanol sont ajoutés à chaque tube puis la densité optique sous 1 cm est lue à 550 nm. La concentration est alors calculée en g/L grâce à la formule ;

Concentration en tanins totaux = 19,33 X (Do tube hydrolysé - Do tube témoin).

### **3.3. Dosage des flavanols monomères et oligomères**

Le dosage des flavanols monomères et oligomères est réalisé à l'aide d'une HPLC Thermo-Finnigan équipée d'une colonne Lichrospher 100 RP 18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) couplée à un fluorimètre. Ce dernier permet d'avoir une limite de détection et une sensibilité améliorées qui peuvent aller jusqu'à un facteur 10 à 15 par rapport à la détection UV. Elles sont calculées à partir de la norme OIV OENO 7/2000 (Tableau 9). De plus, les anthocyanes n'étant pas fluorescentes, cette technique de détection apporte un niveau de sélectivité supplémentaire pour l'identification précise des composés [363]. Ainsi, la (+)-catéchine, l'(-)-épicatéchine, les dimères B1, B2, B3, B4 et le trimère C1 des vins directement filtrés à 0,45 µm sont quantifiés grâce à des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission respectives de 280 nm et 320 nm [364, 365].

Tanins du vin	Limite de détection (mg/L)	Limite de quantification (mg/L)	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse [M-H] <sup>+</sup>
Catéchine	0,07	0,23	1,49	3,23	289
Epicatechine	0,06	0,21	1,65	2,89	289
Dimère B1	0,13	0,42	2,26	4,57	577
Dimère B2	0,14	0,46	2,53	4,02	577
Dimère B3	0,37	1,22	2,89	4,62	577
Dimère B4	0,51	1,67	2,08	3,01	577
Trimère	1,12	3,74	2,25	3,34	865

Tableau 9 : Limites de détection et de quantification des tanins au fluorimètre

Le solvant A utilisé correspond à de l'eau milliQ à 0,5% d'acide formique alors que le solvant B est du méthanol à 0,5% d'acide formique. Le débit est de 1 mL/min. Ces deux solvants ont permis de séparer et quantifier les tanins monomères et oligomères grâce à un gradient d'éluion adapté (Tableau 10). Les concentrations des tanins, exprimées en mg/L, sont déterminées grâce aux équations de régression linéaires des gammes étalons en six points (300, 150, 50, 25, 10 et 5 mg/L) des molécules correspondantes (sauf pour le B4 exprimé en équivalent B1). Le volume d'échantillon injecté est généralement de 20 µL sauf dans le cas de vins trop concentrés ou le volume est adapté (10 ou 5 µL).

Temps (min)	0	3	10	14	20	22	27	32	34	45	46	50	51	55
% de solvant A	97	97	95	95	93	90	90	88	86	75	0	0	97	97
% de solvant B	3	3	5	5	7	10	10	12	14	25	100	100	3	3

Tableau 10 : Gradient d'éluion utilisé pour le dosage des tanins du vin

### 3.4. Dosage des anthocyanes totales

Les anthocyanes se trouvent dans le vin sous plusieurs formes ; les anthocyanes libres et les anthocyanes combinées dont une fraction est décolorée par du bisulfite de sodium (NaHSO<sub>3</sub>) [366].

Pour cela, une solution mère composée de 0,5 mL d'échantillon de vin, 0,5 mL d'éthanol à 0,1% et 10 mL d'HCl à 2% est constituée. 5 mL de cette solution mère sont déposés dans deux tubes à essai, additionnés pour l'un de 2 mL d'eau distillée (tube témoin) et pour l'autre de 2 mL d'une solution de bisulfite de sodium à 15% (tube bisulfite) où la décoloration des anthocyanes est observée. La lecture au spectromètre se réalise après 20 min d'attente à 520 nm et les concentrations en anthocyanes totales, en mg/L, sont établies à l'aide de la formule [366] ;

$$\text{Concentration en anthocyanes totales} = 875 \times (\text{Do tube témoin} - \text{Do tube bisulfite})$$

### 3.5. Dosage des anthocyanes libres

Le dosage des anthocyanes libres est réalisé à l'aide d'une HPLC Accela équipée d'une colonne Nucleosil 100-5 C18 (250 x 4,0 mm, 5 µm). Ainsi, les anthocyanes monoglucosides (cyanidine-3-*O*-glucoside, delphinidine-3-*O*-glucoside, paeonidine-3-*O*-glucoside, malvidine-3-*O*-glucoside, pétunidine-3-*O*-glucoside), deux anthocyanes acétylés (paeonidine-3-*O*-acétylglucoside, malvidine-3-*O*-acétylglucoside) et deux coumaroylés (paeonidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl)glucoside, malvidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl)glucoside) sont identifiées et quantifiées à 520 nm dans des vins directement filtrés à 0,45 µm.

Le solvant A utilisé est de l'eau milliQ à 5% d'acide formique alors que le solvant B se compose d'acétonitrile à 5% d'acide formique. Ces derniers circulent avec un débit de 1 mL/min. Ces deux solvants permettent de séparer et de quantifier ces anthocyanes grâce à un gradient d'élution adapté (Tableau 11). Le volume d'injection est de 20 µL d'échantillon. Les concentrations des anthocyanes (en mg/L) sont déterminées à partir des gammes étalons en sept points (150, 100, 75, 50, 25, 12,5 et 5 mg/L) de la cyanidine-3-*O*-glucoside, delphinidine-3-*O*-glucoside, paeonidine-3-*O*-glucoside et malvidine-3-*O*-glucoside. Les concentrations des dérivés acétylés et coumaroylés sont exprimées en leur équivalent glucoside tandis que celle de la pétunidine-3-*O*-glucoside est exprimée en équivalent malvidine-3-*O*-glucoside. Les limites de détection et de quantification sont déterminées grâce à la résolution OIV OENO 7/2000 (Tableau 12).

Temps (min)	0	25	26	31	32	37
% de solvant A	90	65	0	0	90	90
% de solvant B	10	35	100	100	10	10

Tableau 11 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage des anthocyanes du vin

Anthocyanes glycosidiques	Limite de détection (mg/L)	Limite de quantification (mg/L)	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse [M] <sup>+</sup>
Delphinidine-3- <i>O</i> -glucoside	2,85	9,51	1,97	3,65	465
Cyanidine-3- <i>O</i> -glucoside	0,64	2,13	1,98	4,38	449
Pétunidine-3- <i>O</i> -glucoside	2,12	7,07	2,36	3,9	479
Paeonidine-3- <i>O</i> -glucoside	1,04	3,47	1,71	4,27	463
Malvidine-3- <i>O</i> -glucoside	1,12	3,73	2,65	3,77	493

Tableau 12 : Limite de détection et de quantification des anthocyanes glycosylées à 520 nm



### 3.6. Dosage des pigments polymérisés

Les pigments polymérisés correspondent à un indice caractéristique de la couleur. Le dosage consiste à décolorer la fraction libre grâce au métabisulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ). La méthode est réalisée en étudiant la somme des absorbances à 420 nm et 520 nm.

Pour cela, 1 mL d'échantillon de vin est déposé dans deux tubes à essai avec 9 mL de solution synthétique de vin à  $\text{pH} = 3,2$ . Dans l'un des tubes (tube métabisulfite), 40  $\mu\text{L}$  de métabisulfite de sodium à 20% sont ajoutés alors que dans l'autre (tube témoin), 40  $\mu\text{L}$  d'eau distillée sont ajoutés pour permettre de suivre la dilution inhérente. La mesure de l'absorbance s'effectue sur chacun des tubes à 420 et 520 nm puis le calcul de l'indice est réalisé grâce à la formule ;

$$\text{Indice} = \frac{(\text{Do } 420 + \text{Do } 520 \text{ (tube métabisulfite)})}{(\text{Do } 420 + \text{Do } 520 \text{ (tube témoin)})} \times 100$$

### 3.7. Dosage des indices chromatiques

L'étude de la couleur du vin s'appuie sur la proportion de trois composantes de celle-ci ; la  $\text{Do}$  à 420 nm (couleur jaune), à 520 nm (couleur rouge) et à 620 nm (couleur mauve). Les indices caractéristiques de la couleur en résultant comme l'intensité colorante (IC) [367] et l'intensité colorante modifiée (IC') [13], la teinte [367] et la contribution de chaque couleur en %, permettent d'étudier son évolution dans le temps [368]. En effet, durant le vieillissement du vin, le pourcentage de la  $\text{Do}$  420 nm augmente au détriment des deux autres, surtout lorsqu'il y a oxydation du vin. Cette évolution est principalement due à la dégradation des tanins du raisin et des anthocyanes (cf chapitre 1, 2.2.4.) en composés de couleur jaune comme la méthide-quinone, la déhydrodicatéchine A [230] ou des sels de xanthylum [231]. Ces paramètres sont observés sous 1 mm de trajet optique dans un spectrophotomètre.

Les intensités colorantes IC [367] et IC' [13] sont généralement comprises pour un vin rouge entre 0,7 et 1,5 et sont calculées grâce aux formules [368] ;

$$\text{IC} = \text{Do } 420 + \text{Do } 520$$

$$\text{IC}' = \text{Do } 420 + \text{Do } 520 + \text{Do } 620$$

La teinte [367] est généralement comprise entre 0,5 et 0,6 pour un vin rouge jeune et peut atteindre 1,3 pour un vin rouge vieux. Elle est calculée en suivant la formule [368] ;

$$\text{Teinte} = \text{Do } 420/\text{Do } 520$$

Les contributions de chaque coloration, exprimées en %, qui traduisent l'évolution du vin sont calculées grâce aux formules [368] :

$$\% \text{ Do } 420 = \frac{\text{Do } 420}{\text{IC}'} \times 100$$

$$\% \text{ Do } 520 = \frac{\text{Do } 520}{\text{IC}'} \times 100$$

$$\% \text{ Do } 620 = \frac{\text{Do } 620}{\text{IC}'} \times 100$$

Les vins blancs ne sont pas caractérisés par les IC, IC' et teinte mais par leur Do 420 sous 1 cm de parcours optique. En effet, un vin blanc est d'autant plus jaune qu'il est oxydé.

### 3.8. Dosage d'autres paramètres des vins par infrarouge

Les paramètres du vin tel que le pH, la densité, le taux alcoométrique (TAV, % vol), la température de saturation (Tsat, °C), l'indice de polyphénols total (IPT) et les concentrations mg/L en CO<sub>2</sub>, et en g/L en glucose + fructose, sucres réducteurs, acidité totale et volatile, acide malique et acide lactique sont mesurés à l'aide d'un Winescan (FOSS). Pour cela, 20 mL de vin sont directement utilisés sur l'appareil Winescan. La répétabilité de l'appareil et la précision (écart type entre l'analyse Winescan et l'analyse chimique en laboratoire) sont présentées dans le tableau ci-dessous.

	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% vol)	glucose + fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH
Gamme de mesure	300 – 1800	0,988 – 0,996	10 – 15	0 – 8	0 – 8	2,5 – 4,5
Répétabilité	20,000	0,001	0,020	0,200	0,200	0,015
Précision	50,000	0,001	0,050	0,300	0,300	0,030

	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	IPT
Gamme de mesure	2 – 5	0 – 1	0 – 4	0 – 3	5 - 80
Répétabilité	0,020	0,015	0,100	0,100	1,000
Précision	0,050	0,030	0,200	0,200	3,000

Tableau 13 : Répétabilité et reproductibilité de l'appareil proche infrarouge Winescan  
(TAV : titre alcoométrique volumique, pH : potentiel hydrogène, IPT : Indice de polyphénols Total)

### 3.9. Dosage des composés aromatiques du bois

Afin d'expliquer une partie des caractéristiques aromatiques des vins, leurs arômes apportés par le bois tel que les  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactones *cis* et *trans* ou whisky-lactones, la série des aldéhydes furaniques (furfural, 5-méthylfurfural et alcool furfurylique), ainsi que l'eugénol, le gáïacol, le méthyl-4-guaiacol et les teneurs en vanilline ainsi qu'en syringol sont quantifiés dans le vin puis leurs teneurs sont comparées à leurs seuils de perceptions (Tableau 14).

Composés aromatiques du bois ( $\mu\text{g/L}$ )	Seuils de perceptions ( $\mu\text{g/L}$ de vin rouge)	Seuils de perceptions ( $\mu\text{g/L}$ de vin Blanc)
Guaiacol	10 [79, 369]	95 [370, 371]
4-Méthylgáïacol	20 [79, 369]	65 [370, 371]
Eugénol	500 [370, 371]	100 [370, 371]
Syringol	1000 [79, 372]	1500 [371]
Furfural	20000 [370, 371]	65000 [370, 371]
Alcool furfurylique	45000 [370, 371]	35000 [370, 371]
5-Méthylfurfural	45000 [370, 371]	52000 [370, 371]
Vanilline	250 [373]	400 [370, 371]
<i>trans</i> $\beta$ -Méthyl- $\gamma$ -octalactone	74 [371]	92 [371]
<i>cis</i> $\beta$ -Méthyl- $\gamma$ -octalactone	320 [371]	460 [371]

Tableau 14 : Composés aromatiques du bois dosés dans les vins et leurs seuils de perception

Ces composés aromatiques sont dosés par le laboratoire Exact (Mâcon, France) utilisant une méthode adaptée de celle de Cutzach et al., [374, 375]. La méthode utilisée consiste à extraire les composés aromatiques d'un vin supplémenté en étalon interne (octan-3-ol) par des extractions liquide/liquide successives au dichlorométhane. Les extraits sont rassemblés, séchés sur sulfate de sodium anhydre puis concentrés sous flux d'azote dans le but d'être analysés en chromatographie en phase gazeuse couplé à une masse (CPG-MS).

### 3.10. Dosage des ellagitanins totaux par hydrolyse acide

#### 3.10.1. Hydrolyse acide

Comme pour le bois, le clivage puis la réorganisation spontanée du groupement 4,6-hexahydroxydiphényle en acide ellagique sont accélérés en plaçant notre extrait de vin dans des conditions thermique et acide importantes [171]. Pour cela, 50 mL de vin sont préalablement évaporés à sec sous pression réduite à 30°C grâce à un évaporateur rotatif. Le résidu est alors repris dans 20 mL de méthanol à l'aide d'un sonicateur. En effet, la présence

d'eau dans le vin rend l'analyse de l'acide ellagique impossible, car ce dernier y est faiblement soluble. 4 mL de cette solution méthanolique sont ensuite placés dans quatre tubes à essais avec 1 mL d'HCl 37%. Ces tubes sont fermés hermétiquement par des bouchons à vis munis d'un joint en téflon puis placés 2 h à 100°C dans un bain marie. Parallèlement, afin de déterminer la quantité d'acide ellagique présent dans le bois de chêne (suite à la dégradation des ellagitanins durant le séchage du bois) et solubilisé dans le vin, 2 tubes témoins ne subissant pas d'hydrolyse sont constitués d'1 mL de solution de vin repris dans le méthanol, 0,225 mL de méthanol et 25 µL de solution méthanolique de naphtanol à 1 g/L (étalon interne). Après hydrolyse, les tubes sont laissés à l'air libre pour refroidissement puis, trois tubes à hydrolyse dans lesquels 0,1 mL de solution méthanolique de naphtanol à 1 g/L sont ajoutés et deux tubes témoins sont vortexés, filtrés à 0,45 µm puis placés dans des vials sertis pour l'analyse UPLC-UV-MS.

### 3.10.2. Analyse UPLC-UV-MS

La quantification de l'acide ellagique est effectuée sur une UPLC Thermo scientific Accela équipée d'une colonne Hypersil GOLD (50 x 2,1 mm, 1,9 µm) à travers laquelle les solvants sont délivrés à un débit de 0,3 mL/min. Le solvant A utilisé est de l'eau milliQ à 0,4% d'acide formique alors que le solvant B est du méthanol à 0,4% d'acide formique. Ces deux solvants sont associés à un gradient d'éluion adapté (Tableau 15) afin de séparer l'acide ellagique des autres constituants du vin. L'intégration du pic de l'acide ellagique est alors réalisée à 370 nm alors que celle du témoin interne, le naphtanol, est menée à 280 nm après l'injection de 5 µL d'échantillon. Ces pics pouvaient être confirmés en masse à  $m/z = 301$  pour l'acide ellagique (mode de ionisation négatif) et  $m/z = 145$  pour le naphtanol (mode de ionisation positif). La quantification est réalisée grâce à l'équation de régression de la courbe étalon de l'acide ellagique (deux pesées et six concentrations sérielles (200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 mg/L)). La répétabilité et la reproductibilité sont déterminées en suivant les recommandations de l'OIV OENO 7/2000 (Tableau 16).

Temps (min)	0	8	13	14	18	20	23	24	28
% de solvant A	100	76	70	62	56	0	0	100	100
% de solvant B	0	24	30	38	44	100	100	0	0

Tableau 15 : Gradient d'éluion utilisé pour le dosage de l'acide ellagique d'un vin hydrolysé

Composé	Limite de détection (mg / L)	Limite de quantification (mg / L)	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse [M-H] <sup>-</sup>
Acide ellagique	4,98	16,6	2,31	4,25	301

Tableau 16 : Répétabilité et reproductibilité de l'analyse de l'acide ellagique dans les vins hydrolysés et limites de détections et de quantifications de la méthode UPLC-UV-MS

## 3.11. Dosage des ellagitanins moléculaires

### 3.11.1. Extraction sur phase solide (SPE)

Le vin est un milieu riche en différents composés (tanins du raisin, anthocyanes...) et en général les ellagitanins y sont présents en moindre quantité. Pour cette raison, un fractionnement du vin sur phase solide est préalablement effectué avant l'analyse HPLC-MS [156, 167]. En effet, sans celui-ci, le bruit de fond généré par les molécules non ellagiques est trop important et masquerait le signal des ellagitanins [71].

Le gel TSK, qui permet de retenir les tanins de manière sélective par rapport aux autres polyphénols est utilisé pour effectuer ce fractionnement [197, 376, 377]. Une colonne (130 mm x 25 mm (h X Ø)) est remplie de gel TSK HW 50 F sur une hauteur de 55 mm puis laissé pendant une nuit dans du méthanol afin de l'activer. Le lendemain, la colonne est lavée avec 50 mL d'eau acidifiée par 0.4% d'acide formique. Le fractionnement est ensuite réalisé sur 120 mL de vin déposés en tête de colonne par volumes successifs de 10 mL. Le vin chargé en tête de colonne est d'abord lavé grâce à 50 mL d'eau acidifiée (H<sub>2</sub>O/HCOOH (996/4)) qui permet l'élimination de l'acide tartrique et des sucres résiduels. Puis, 100 mL de solvant hydrométhanolique acidifié (H<sub>2</sub>O/MeOH/HCOOH (298/698/4)) permettent d'éliminer du gel la majeure partie des polyphénols. Enfin, les ellagitanins sont récupérés sous l'action de 100 mL d'une solution H<sub>2</sub>O/Acétone acidifiée par de l'acide formique (298/698/4). Cette dernière fraction, supplémentée par 1 mL d'eau milliQ à 20 mg/L d'acide chlorogénique (étalon interne), est évaporée à sec sous pression réduite à 30°C puis le résidu est repris dans 1 mL d'eau milliQ acidifiée (H<sub>2</sub>O/HCOOH (996/4)) à l'aide d'un sonicateur, filtré (0,45 µm) et placé dans un vial HPLC muni d'un réducteur [71]. L'utilisation d'acide chlorogénique comme étalon interne est préférable à celle du naphthanol qui est moins bien soluble dans l'eau. De plus, l'acide chlorogénique est détectable en masse en mode négatif.

### 3.11.2. Analyse HPLC-MS

Le dosage moléculaire des ellagitanins consiste à quantifier les huit ellagitanins du bois solubilisés dans le vin (castalagine, vescalagine, grandinine, roburine A roburine B, roburine C, roburine D et roburine E) à l'aide de chacun de leurs pics après séparation et détection au spectromètre de masse.

Pour cela, 20 µL de la fraction de vin repris dans de l'eau acidifiée décrite précédemment sont injectés dans une HPLC Thermo-Finnigan série Surveyor équipée d'une colonne Lichrospher 100 RP 18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) à travers laquelle les solvants circulent

au débit de 1 mL/min. Le solvant A utilisé correspond à de l'eau milliQ à 0,4% d'acide formique alors que le solvant B est du méthanol à 0,4% d'acide formique. Le gradient d'élution adapté est donné tableau 17. La quantification des ellagitanins moléculaires est effectuée avec un détecteur de masse dont les paramètres optimaux sont décrits plus haut (cf chapitre 2, 1.2.) puis exprimée en équivalent vescalagine grâce à l'équation de régression linéaire de la gamme étalon (200, 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 mg/L). L'acide chlorogénique, les roburines A et D, la castalagine et la vescalagine, les roburines B et C, la grandinine et la roburine E sont quantifiés respectivement à  $m/z = 353, 924, 933, 990$  et  $1065 \pm 0.5 m/z$ . Les seuils de détection et de quantification ainsi que la répétabilité et la reproductibilité de la méthode sont évalués selon la recommandation de la résolution OIV OENO 7/2000 (Tableau 18).

Temps (min)	0	5	25	75	77	87	89	94
% de solvant A	100	100	97	80	0	0	100	100
% de solvant B	0	0	3	20	100	100	0	0

Tableau 17 : Gradient d'élution utilisé pour le dosage des ellagitanins d'un vin

Composé	Limite de détection (mg/L)	Limite de quantification (mg/L)	Répétabilité (%)	Reproductibilité (%)	Masse (M-Z)
Vescalagine	0,18	0,59	2,59	4,59	933

Tableau 18 : Limites de détection et de quantification de la vescalagine, répétabilité et reproductibilité de la méthode HPLC-MS

### 3.12. Analyses sensorielles

Les vins élevés dans les barriques classifiés par des potentiels polyphénoliques différents sont analysés chimiquement. Parallèlement, pour comprendre les impacts organoleptiques de la composition des vins, ces derniers sont également dégustés. Or, plusieurs tests qu'ils soient discriminatifs, descriptifs ou hédoniques existent pour évaluer les paramètres visuels, odorants et gustatifs d'un vin. Dans ce travail, la recherche des répercussions des bois classifiés sur le vin ont dirigé le choix du test sensoriel vers un test descriptif olfactif et gustatif. En effet, ce type de test permet d'examiner la nature des différences et de comparer l'intensité des descripteurs entre les échantillons [378]. Pour cela, les juges doivent noter l'intensité des descripteurs sur une échelle structurée de 1 à 7 (norme V 09-016).

### 3.12.1. Entraînement des juges

Le choix des juges est également un paramètre important en fonction du test et du nombre de personne pouvant participer à la dégustation. Plus ces derniers arrivent à différencier les échantillons, plus la significativité du test statistique sera grande. Dans cette étude, les juges, au nombre de 10, minimum, sont de natures différentes (œnologues, chercheurs ou commerciaux dans le domaine du vin...). Pour diminuer les biais et augmenter la capacité des juges à discriminer certains descripteurs, un entraînement sur l'amertume et l'astringence est effectué. Cet entraînement a suivi les recommandations de la norme ISO 8586-2 :2008. L'entraînement s'est déroulé en huit séances pour les deux descripteurs impactés directement par les ellagitanins, soit l'amertume et l'astringence [26-28].

Pour cela, la première séance est centrée sur la reconnaissance des sensations perçues grâce à plusieurs solutions modèles (12% d'éthanol, 5 g/L d'acide tartrique, pH = 3,5) supplémenté par du sulfate de quinine (SQ) (0,25 g/L) dont la caractéristique est son amertume, ou du sulfate d'aluminium (SA) (3 g/L) utilisé couramment comme marqueur de l'astringence ou encore par de la (+)-catéchine (1 g/L) reconnue comme à la fois amère [14] et astringente [16, 21] (cf chapitre1, 3.4.).

La deuxième séance est centrée sur l'évaluation des perceptions d'amertume et d'astringence par les juges sur des solutions modèles de sulfate de quinine (1, 5, 10, 15 et 30 mg/L) pour l'amertume et de sulfate d'aluminium (50, 500, 1000, 2000 et 4000 mg/L) pour l'astringence. Cette séance a permis de déterminer les concentrations auxquelles les juges percevaient majoritairement ces goûts ou sensations.

Les séances 3, 4 et 5 permettent l'entraînement des juges à classer les solutions sur une échelle structurée allant de 1 à 7. Pour cela, des solutions de 5, 15 et 30 mg/ L de sulfate de quinine et de 50, 1000, et 2000 mg/L de sulfate d'aluminium sont utilisées.

A la séance 6, les deux descripteurs sont mélangés dans une même solution à différentes concentrations (Tableau 19). Les juges entraînés doivent dans cette séance déterminer les intensités d'amertume et d'astringence de ces différentes solutions.

Concentrations en sulfate de quinine (mg/L)	Concentrations en sulfate d'aluminium (mg/L)
5	50
5	2000
15	50
15	2000
30	50
30	2000

Tableau 19 : Concentration en sulfate de quinine et en sulfate d'aluminium des solutions dégustées

Pour terminer, lors des deux dernières séances, des extraits de tanins de pépins et de pellicules (50, 500, 1000, 2000 et 3000 mg/L) ont été utilisés afin d'évaluer les juges sur leurs capacités à quantifier l'astringence et l'amertume avec des molécules présentes dans le vin.

### 3.12.2. Conditions des dégustations

Les dégustations se déroulent dans une salle de dégustation répondant à la norme V 09-105. C'est-à-dire que cette salle est munie de postes individuels (au nombre de 12) pour séparer chaque dégustateur, la température est fixée à 20°C, la préparation d'échantillon ne s'effectue pas dans la même salle et l'air y est inodore. Les dégustations sont réalisées à des horaires éloignés du repas (10h-12h ou 15h-18h) pour éliminer les perturbations sensorielles qu'il peut entraîner et utiliser ainsi la plage horaire dans laquelle les juges sont les plus performants. Les échantillons sont présentés dans des verres INAO de 125 mL noir, répondant à la norme V 09-110, pour éviter toute influence de la couleur du vin sur le jugement des individus. Chaque échantillon est codé par un numéro à 3 chiffres et est présenté dans des séries de 2 à 5 verres. Une pause de 5 min entre chaque série est observée (Figure 55). Chaque verre est rempli par un volume d'environ 40 mL de vin.

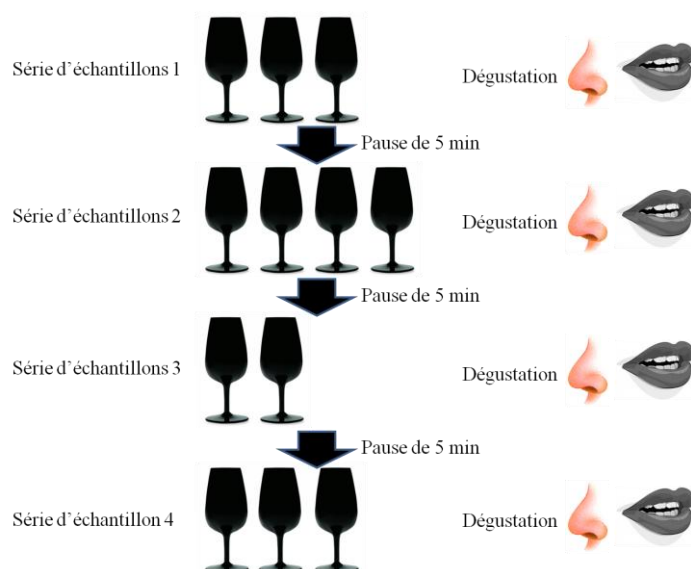


Figure 55 : Exemple de déroulement d'une séance de dégustation



Les juges doivent d'abord évaluer l'intensité des descripteurs olfactifs (intensité aromatique du fruité, intensité aromatique du boisé, vanille/coco, épices et fumé-grillé) puis gustatifs (fruité, amplitude-rondeur, amertume, astringence et persistance) (Figure 56). L'intensité aromatique du fruité peut être défini ici comme la puissance aromatique de l'ensemble des arômes de fruit du vin (fruits rouges, fruits noirs, fruits confiturés...) perçus au nez. L'intensité aromatique du boisé correspondait à l'ensemble des critères boisés (vanille, coco, fumé, grillé...) perçus au nez. En bouche, le volume, l'amplitude et la rondeur peuvent être définis comme la consistance d'un vin. La persistance est la durée pendant laquelle la rémanence des sensations du vin reste après l'avoir évacuer de la bouche.

Dégustateur : (nom, prénom)

Date :

N° éch		1	2	3	4	5	6	7	Commentaires
N E Z	intensité aromatique du fruité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	intensité aromatique du boisé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	vanille	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	coco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	épices	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	fumé - grillé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
B O U C H E	fruité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	rondeur	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	amplitude	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	amertume	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	astringence	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	persistance	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Echelle générale :

- 1 néant
- 2 très faible
- 3 faible
- 4 moyen
- 5 fort
- 6 assez fort
- 7 très fort

Echelle pour l'astringence :

- 1 amorphe
- 2 creux
- 3 souple
- 4 velouté
- 5 légère astringence
- 6 tannique
- 7 excès

Note /20:

Figure 56 : Exemple de feuille de dégustation utilisée

### **3.13. Tests statistiques**

Des ANOVAs (ANalysis Of VAriance) à un facteur sont réalisées sur les différents dosages grâce au logiciel de statistique Statistica (v 10.0.1011.7, StatSoft. Inc, France). Lorsque le test ANOVA est significatif ( $p \leq 5\%$ ), un test post-hoc d'analyse de variance (test de Newman Keuls) est réalisé afin de déterminer les modalités de vin qui diffèrent. Ce test, pratiqué à l'issue d'une ANOVA, est une comparaison de moyennes par paires. Le résultat du test est une série de paires de groupes dont les moyennes sont considérées comme significativement différentes, au niveau de risque  $\alpha$  choisi. Le niveau de risque représente la possibilité de conclure qu'une différence existe alors qu'il n'y en a pas. Pour un risque  $\alpha$  défini à 0,05 ou 5%, le test statistique a 95% de chance d'être vrai. Le test de Newman-Keuls fournit pour chaque paire de comparaison une valeur statistique que l'on confronte à une valeur critique théorique issue de la table de Newman-Keuls. Cette valeur critique dépend, pour chaque paire de groupes comparés, du niveau de risque  $\alpha$  choisi, des effectifs du groupe de dégustation et de la différence des moyennes des groupes comparés.

Pour les analyses statistiques sur les résultats des dégustations, des ANOVAs à deux facteurs sont réalisées sur chaque descripteur afin de vérifier les effets échantillons et juges grâce au logiciel de statistique FIZZ traitement v 2.41B (Biosystemes, Couternon France). L'effet juge est à éviter, c'est pourquoi les juges qui sont trop décalés par rapport aux autres lors de l'entraînement sont supprimés du panel. Puis un test post-hoc de Newman Keuls est appliqué sur les différents descripteurs pour connaître ceux significativement différents en fonction des modalités de barriques.

## **4. Suivi cinétique de l'oxygène dissous dans un vin rouge**

La concentration en oxygène dissous d'un vin rouge a été suivie pendant son élevage dans plusieurs barriques neuves. Pour cela, une nouvelle technologie non invasive et non destructive qui permet de mesurer l'oxygène dissous entre 1 ppb (partie par milliard) et 45 ppm (partie par million) est utilisée. Cette technologie traduit la vitesse de diminution de la luminescence d'un photophore en fonction de la teneur en oxygène du milieu. Elle est utilisée par la sonde PreSens (Sensor Type PSt.3) commercialisée par l'entreprise PreSens - Precision Sensing (Regensburg, Allemagne). Cette technique permet une mesure répétable et sans consommation d'oxygène.

La sonde se décompose principalement en deux parties (Figure 57) ; une partie constituée d'une pastille recouverte d'un matériel photophore (complexe de ruthénium) collée

au contact du vin sur la face interne d'une surface transparente (verre blanc) et une seconde partie, le transmetteur, qui va servir à exciter et à suivre la diminution de la luminescence des pastilles. Pour cela, une fibre optique reliée au transmetteur est amenée au dessus de la pastille de façon perpendiculaire. Un flash lumineux, de longueur d'onde d'environ 450 nm (lumière bleue), est envoyé sur la pastille ce qui excite les complexes de ruthénium (Figure 58). Ces derniers vont se désexciter pour retourner à leur état énergétique fondamentale, soit en fluorescent, soit par transfert d'énergie à l'oxygène dissous dans le vin (quenching). Donc, plus le vin sera riche en oxygène, plus la fluorescence de la pastille diminuera rapidement.



Figure 57 : Sonde PreSens Fibox PSt 3

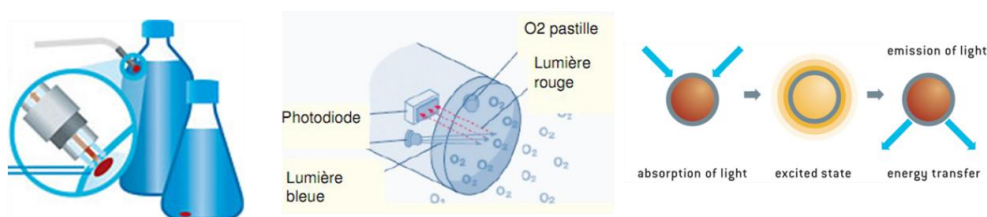


Figure 58 : Mesure de l'oxygène

Pour les mesures d'oxygène non intrusives, des barriques expérimentales ont dû être mises en place, le bois des douelles n'étant pas transparent. Huit « hublots » sont répartis sur les barriques pour permettre de mesurer l'oxygène dissous en plusieurs points. Cinq points de mesures se situent sur un des fonds et trois autres sur le flanc de la barrique (Figure 59). Ces « hublots » se constituent d'un tube métallique creux légèrement conique placé sur la barrique. Au niveau de l'extrémité du tube métallique, située sur la face interne des douelles, un rond en verre (35 mm X 5 mm (Ø X épaisseur)) est fixé. En son centre, face interne, une pastille PreSens (lot SP-PSt3-NAU-D5-CAF, Regensburg, Allemagne), est collée sur la paroi en verre. Elle sera au contact avec le vin lors de l'élevage de celui-ci.



Figure 59 : Barriques expérimentales pour la mesure de l'oxygène dans le vin



**Chapitre 3 : Etude de la cinétique des  
ellagitanins du bois de chêne (stave) sur le vin  
rouge lors d'un élevage et impacts  
organoleptiques**

# 1. Etude sur un vin d'assemblage Cabernet-sauvignon (CS)/Merlot du millésime 2008

## 1.1. Caractéristiques du vin

Les raisins de CS et de Merlot ont été récoltés mécaniquement en octobre 2008 sur l'appellation Malepère (Aude). La vinification des deux cépages s'est déroulée par la suite de manière séparée et en parallèle. Les grappes de raisin sont foulées et 5g/hL de SO<sub>2</sub> sont ajoutés ainsi qu'une enzyme d'extraction (Kzymþ, ICV, France) et des levures (ICV K1, Lallemand). La fermentation alcoolique s'est déroulée à 25°C dans des cuves en inox de 40 hL puis la fermentation malolactique à l'aide de bactéries lactiques (Viniflora CH16, Chr. Hansen) est réalisée en 47 jours. En janvier 2009, les vins obtenus à partir des grappes de CS et de Merlot sont assemblés (50/50 (vol/vol)) (Tableau 20) dans des cuves en inox (960 X 47 X 6.5 mm) de 3 hL.

Analyses chimiques						
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)			
CS / M- T0	1,79 ± 0,01	2,93 ± 0,50	241,30 ± 11,81			

Analyses des tanins moléculaires						
Vin	Catéchine (mg/L)	Epicatéchine (mg/L)	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B2 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Dimère B4 (mg/L)
CS / M- T0	35,5 ± 0,35	34,23 ± 0,34	13,68 ± 0,14	5,66 ± 0,06	2,28 ± 0,02	0,69 ± 0,01

Analyses FOSS						
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres-Réducteurs (g/L)	pH
CS / M- T0	794 ± 1	0,99 ± 0,01	13,89 ± 0,01	0,2 ± 0,04	2,0 ± 0,01	3,47 ± 0,01
Vin	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	T sat (°C)	IPT
CS / M- T0	3,98 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0 ± 0,01	1,66 ± 0,01	n.d	60 ± 0,01

Tableau 20 : Caractéristiques du vin issu de l'assemblage CS/Merlot (50/50) (TAV ; titre alcoométrique volumique, IPT ; indice de polyphénols totaux, T sat ; température de saturation)

## 1.2. Mise en place de l'essai

Les bois (staves) du même grain mis au contact avec le vin sont constituées des deux principales espèces de chêne Européen ; *Quercus robur* et *Quercus petraea* provenant des Vosges (France). Les staves ont préalablement subi un séchage naturel de 18 mois sur le parc de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France). Puis, la classification de ces bois effectuée par Oakscan® est divisée en 3 groupes en fonction de leur indice polyphénolique ; un groupe IP 13 (indice polyphénolique (IP) de  $13 \pm 2,6$ ), un groupe IP 32 (IP =  $32 \pm 7,2$ ) et un groupe IP 50 (IP =  $50 \pm 9,8$ ). Avant la mise au contact avec le vin, ces staves subissent la même chauffe au sein d'un four industriel à convection dont le temps de chauffe et la température correspondent à la chauffe « moyenne plus » (temps de chauffe très long (80 min) avec une température basse et un bousinage avec couvercle ( $T^{\circ}\text{max}$  lors du bousinage =  $280^{\circ}\text{C}$ )) de l'entreprise. Puis, neuf "staves" (430 X 47 X 6.5 mm) de même IP sont ajoutées pour chaque cuve (Figure 60). Le suivi de la cinétique d'extraction des ellagitanins du bois par le vin a ensuite été suivi tous les mois pendant 4 mois.

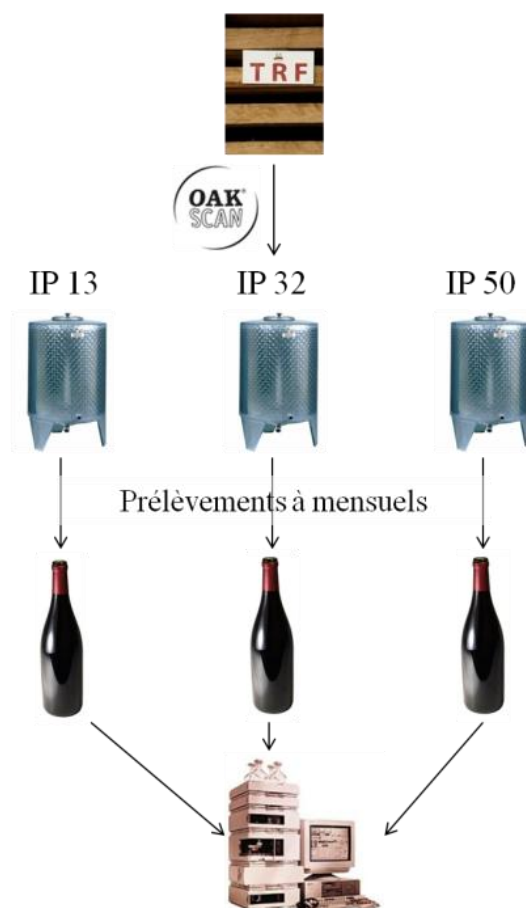


Figure 60 : Schéma du plan d'essai sur le vin CS/Merlot (50/50 (vol/vol)) (millésime 2008)

### 1.3. Analyses des ellagitanins dans le bois de chêne utilisé

Les concentrations et les compositions en ellagitanins de chaque stave utilisée sont déterminées par HPLC-UV-MS et corrélées avec la classification NIRS (Near InfraRed Spectroscopy). Une première approche a consisté à déterminer la concentration en ellagitanins des bois en déterminant la quantité d'acide ellagique libérée après hydrolyse acide. En effet, lors de cette réaction, chaque ellagitanins, monomère ou dimère, libère une molécule d'acide ellagique. En accord avec la bibliographie (cf chapitre 1, 1.5.), les concentrations en ellagitanins totaux retrouvées dans nos bois présentent de fortes variations puisque celles-ci varient de 5,46 à 32,18 mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec. Les concentrations des bois du groupe IP 13 ( $IP = 13 \pm 2,6$ ) sont comprises entre 5,46 et 13,20 mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec alors que les bois appartenant au groupe IP 32 ( $IP = 32 \pm 7,2$ ) et IP 50 ( $IP = 50 \pm 9,8$ ) ont des concentrations respectivement comprises entre 9,10 et 25,09 mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec et 21,05 et 32,18 mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec (Tableau 21). Une bonne corrélation entre les analyses chimiques (hydrolyse acide) et proche infrarouge (NIRS) est donc observée ce qui permet d'affirmer que la classification NIRS permet de classer les bois en fonction de leur indice polyphénolique et plus précisément en fonction de leur teneur en ellagitanins. Malgré tout, le chevauchement des extrémités des classes montre la limite de la technique NIRS. En effet, il est dû au fait que la quantification par proche infrarouge est une quantification indirecte (cf chapitre 1, 4.4.2.) qui utilise un modèle de régression linéaire basé sur un étalonnage de l'appareil établi grâce à la Do 280 nm, à l'indice de Folin-Ciocalteu et aux teneurs en ellagitanins déterminé par hydrolyse acide puis HPLC. De plus, l'erreur inhérente à l'analyse par hydrolyse acide est un des paramètres qui joue également un rôle sur le chevauchement des extrémités des classes.



Classification NIRS (Classe Oaksan®)	Numéros d'échantillons	Analyse des ellagitannins totaux <sup>a</sup>		Analyse des 8 ellagitannins <sup>b</sup>	
		Concentrations en ellagitannins	Concentrations moyennes des ellagitannins	Concentrations en ellagitannins	Concentrations moyennes des ellagitannins
Groupe IP 13 (IP = 13 ± 2,6)	48	5,46 ± 0,27	9,67 ± 2,50	6,13 ± 0,31	13,75 ± 5,86
	23	6,67 ± 0,28		5,93 ± 1,70	
	32	9,64 ± 0,50		14,24 ± 1,66	
	21	10,79 ± 0,12		15,41 ± 1,68	
	33	10,86 ± 0,24		17,86 ± 0,73	
	52	11,04 ± 0,55		12,92 ± 0,65	
	19	13,20 ± 0,25		23,79 ± 2,45	
Groupe IP 32 (IP = 32 ± 7,2)	47	9,10 ± 0,75	15,74 ± 4,78	13,36 ± 1,74	24,44 ± 10,62
	84	12,97 ± 0,15		23,17 ± 1,13	
	27	13,48 ± 0,35		17,03 ± 1,13	
	77	13,73 ± 0,54		16,41 ± 0,82	
	82	16,88 ± 0,43		24,09 ± 1,21	
	12	18,95 ± 0,76		29,84 ± 1,29	
	65	25,09 ± 4,73		47,15 ± 2,08	
Groupe IP 50 (IP = 50 ± 9,8)	57	21,05 ± 1,05	26,32 ± 3,78	34,70 ± 1,74	41,73 ± 9,30
	54	21,24 ± 0,90		29,91 ± 7,06	
	68	26,32 ± 0,39		31,31 ± 2,60	
	88	26,59 ± 0,04		46,97 ± 3,73	
	66	27,17 ± 0,40		45,00 ± 1,29	
	87	29,68 ± 3,46		46,95 ± 7,83	
	81	32,18 ± 2,04		57,30 ± 1,62	

<sup>a</sup> Concentrations en ellagitannins estimées par hydrolyse acide et exprimées en mg équivalent acide ellagique par g de bois sec, <sup>b</sup> Concentrations des 8 ellagitannins (castalagine, vescalagine, grandinine et roburine A, roburine B, roburine C, roburine D et roburine E) séparés et quantifiés par HPLC-UV-MS et exprimés en mg équivalent vescalagine par g de bois sec

Tableau 21 : Concentrations en ellagitannins des bois de chêne utilisés au contact avec le vin CS/Merlot

Dans le but de confirmer la corrélation entre la concentration en ellagitannins des bois et le classement NIRS, l'analyse de la concentration et de la composition des 8 ellagitannins du bois (castalagine, vescalagine, grandinine et roburine A, roburine B, roburine C, roburine D et roburine E) est effectuée par HPLC-UV. Comme observé lors de l'analyse des concentrations déterminées par hydrolyse acide, une forte variabilité tant dans les niveaux que dans la composition des ellagitannins sont observées. En effet, celles-ci vont de 5,93 à 57,30 mg d'équivalent vescalagine/g de bois sec (Tableau 21). La corrélation entre cette analyse chimique et la classification NIRS des bois est une fois de plus observée puisque les bois appartenant aux groupes IP 13, IP 32 et IP 50 possèdent des teneurs en ellagitannins comprises respectivement entre 5,93 et 23,79 mg d'équivalent vescalagine/g de bois sec, 13,36 et 47,15 mg d'équivalent vescalagine/g de bois sec et 29,91 et 57,30 mg d'équivalent vescalagine/g de bois sec. Les résultats obtenus pour ces deux paramètres chimiques (ellagitannins totaux et ellagitannins moléculaires) indiquent que l'analyse des bois par NIRS permet de déterminer les concentrations en ellagitannins des bois utilisés en œnologie. De plus,

l'analyse moléculaire des ellagitanins permet de voir, en accord avec la bibliographie (cf chapitre 1, 1.3.2.2.), que la castalagine est toujours l'ellagitanin le plus abondant avec un pourcentage moyen de 34% suivi de la vescalagine (~17%), roburine D (~13%), roburine E (~10%), grandinine (~8%) roburine C (~6%), roburine B (~7%) et roburine A (~5%) (Figure 61 A). Cependant, cette composition, comme pour la teneur en ellagitanins des bois (Figure 61 B), varie beaucoup. En effet, la castalagine peut représenter de 28 à 43% des ellagitanins d'un bois alors que la vescalagine, la roburine D, la roburine E, la grandinine, la roburine C, la roburine B et la roburine A peuvent respectivement représenter entre 8 et 29%, 8 et 17%, 7 et 13%, 4 et 12%, 2 et 10%, 2 et 12% et 3 et 9% (Figure 61 A). Cette variabilité, tant dans les teneurs que dans la composition en ellagitanins, est le résultat de nombreux facteurs (espèces, origines, séchage...) précédemment cités (cf chapitre 1, 1.5.) tel que l'espèce, l'âge, l'origine géographique, les pratiques sylvicoles, la position de la pièce de bois par rapport au rayon de la grume et à la hauteur dans le tronc [138, 139, 147, 148], mais aussi le processus de fabrication de la barrique (le type, la durée et la puissance de la chauffe) [139, 149]. Cependant, cette variabilité de composition ne semble pas impacter la classification NIRS.

**A**

Classes Oakscan®	Numéro d'échantillons	Roburine A (%)	Roburine B (%)	Roburine C (%)	Grandinine (%)	Roburine D (%)	Vescalagine (%)	Roburine E (%)	Castalagine (%)
IP 13 (IP = 13 ± 2,6)	48	3	7	6	11	11	14	13	34
	23	3	5	4	10	15	16	12	35
	32	3	2	2	12	8	29	12	31
	21	4	4	4	7	12	26	11	31
	33	4	3	3	11	9	29	12	30
	52	4	5	5	8	12	18	10	39
IP 32 (IP = 32 ± 7,2)	19	4	5	5	10	10	22	10	34
	47	5	6	6	9	11	18	10	34
	84	6	6	5	6	13	16	7	41
	27	3	3	2	6	13	21	7	43
	77	6	6	5	5	14	17	9	39
	82	5	11	10	11	13	8	12	29
IP 50 (IP = 50 ± 9,8)	12	5	4	4	8	12	23	11	33
	65	7	7	8	4	17	16	7	34
	57	6	12	9	6	16	12	9	32
	54	4	12	8	9	15	9	13	29
	68	3	9	10	10	14	8	11	35
	88	6	11	9	7	17	10	7	32
	66	5	8	9	8	13	17	7	33
	87	7	7	8	4	17	16	7	34
	81	9	7	6	4	13	22	11	28

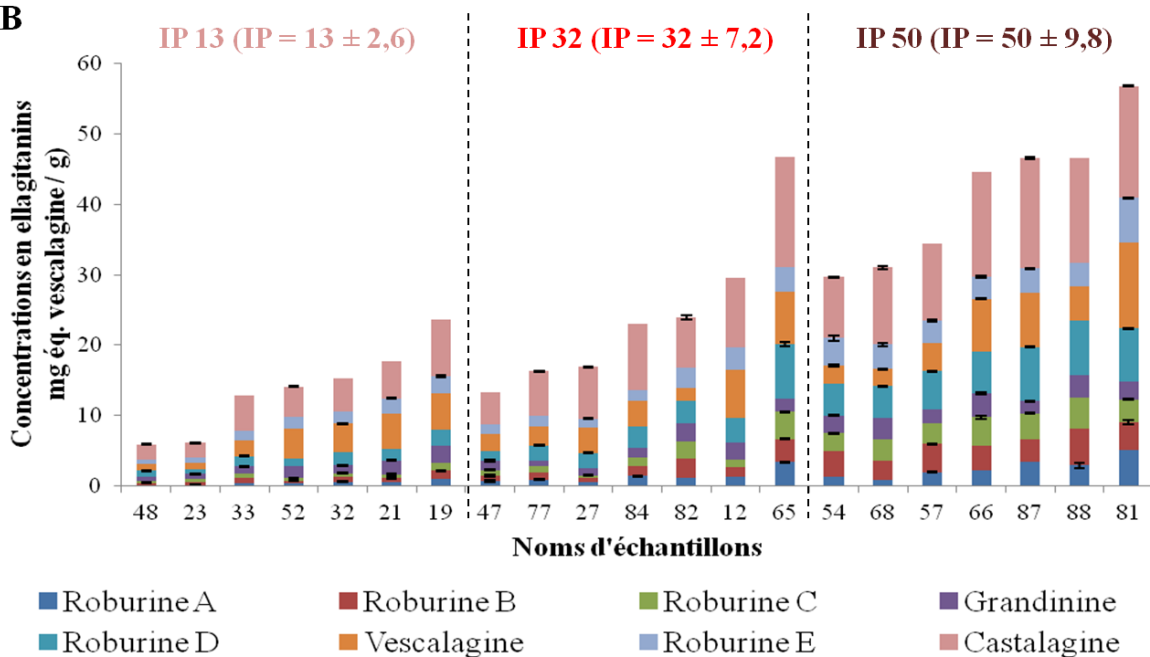
**B**

Figure 61 : **A** : Tableau de la composition en ellagitanins des bois utilisés en %, **B** : Concentrations et compositions en ellagitanins des bois de chêne utilisés corrélé aux IP déterminés par Oakscan®

#### 1.4. Analyses des ellagitanins dans le vin

Dans le but de vérifier si les différentes concentrations en ellagitanins des bois ont une influence sur les concentrations en ellagitanins retrouvées dans le vin mis au contact avec ces bois de chêne classifiés par NIRS, la cinétique d'extraction des tanins du bois par le vin a été suivie. En effet, les ellagitanins appartiennent à la fraction extractible du bois, ils peuvent donc être solubilisés dans le vin au cours de l'élevage de ce dernier au contact avec le bois. Pour suivre la cinétique d'extraction des ellagitanins par le vin, l'analyse de leurs concentrations est réalisée chaque mois pendant 4 mois par hydrolyse acide. Dans le vin rouge élevé au contact avec les staves classifiées par NIRS, la concentration en ellagitanins

est faible puisque le maximum observé n'est que de  $3,49 \pm 0,25$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 62) alors que dans les vins, celle-ci peut atteindre 51,1 mg d'ellagitanins/L de vin [156]. Ce maximum est observé dans le vin élevé au contact avec les bois du groupe IP 50 qui a été classé par NIRS comme étant le groupe le plus riche en polyphénols. Le vin élevé au contact avec les bois moins riche en ellagitanins des groupes IP 13 et 32 conduisent à des maximums de concentration en ellagitanins respectivement de  $1,74 \pm 0,14$  et de  $2,02 \pm 0,10$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 62). Ces maximums de concentration en ellagitanins des vins sont directement corrélés avec la classification NIRS des bois ; plus l'IP du groupe de bois sera élevé, plus la concentration en ellagitanins des vins sera importante. Cette corrélation montre que la classification des bois en fonction de leurs teneurs en ellagitanins préalablement à leur utilisation au contact avec des vins a un impact sur la composition chimique des vins.

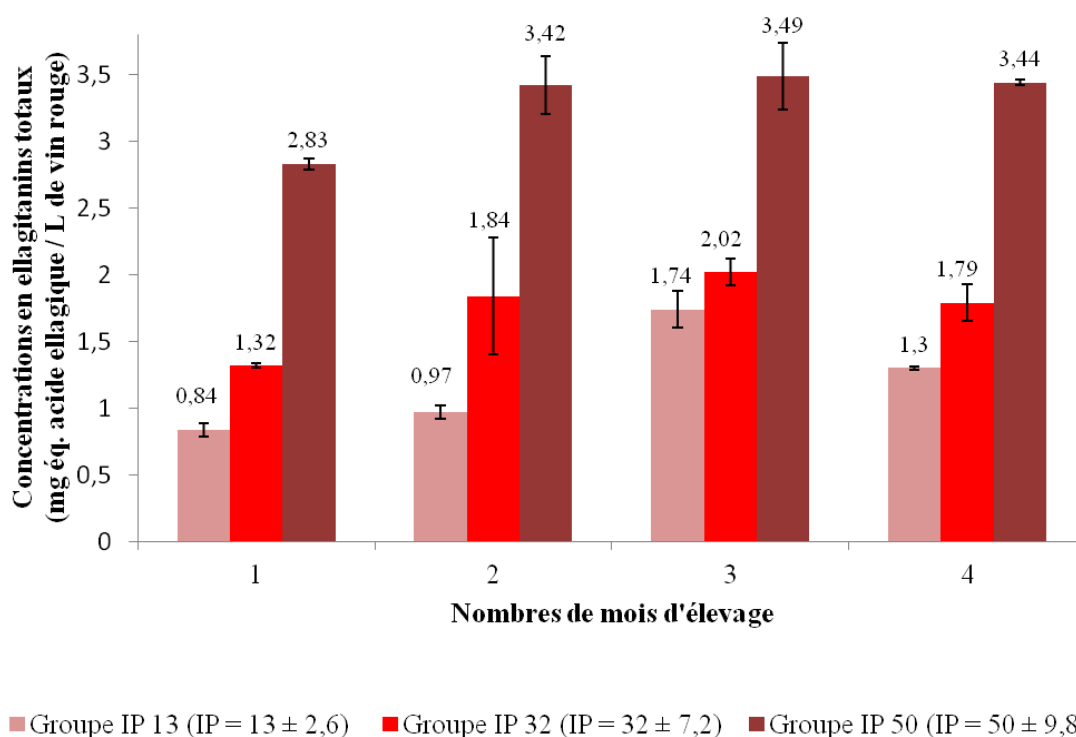


Figure 62 : Concentrations en ellagitanins dans le vin rouge issu de l'assemblage CS/Merlot (50/50)

De plus, la cinétique d'extraction des ellagitanins par le vin est influencée par la classification NIRS. En effet, dans le vin élevé au contact avec les staves les moins riches en ellagitanins (groupe IP 13), le maximum de concentration en ellagitanins est atteint au bout de 3 mois, puis une diminution est observée. A contrario, le vin élevé au contact avec les deux autres groupes de staves montre un maximum de concentration en ellagitanins dès le 2<sup>ème</sup> mois puis celui-ci reste stable jusqu'au 4<sup>ème</sup> mois. Ce profil de cinétique est la conséquence d'une extraction rapide des ellagitanins du bois durant les premiers mois d'élevage. Ensuite,

lorsque la majorité des ellagitanins est extraite sur les premiers millimètres du bois, le vin doit pénétrer plus profondément dans le bois pour extraire plus d'ellagitanins. Il en résulte une diminution de la vitesse d'extraction des ellagitanins alors que leur vitesse de réaction avec d'autres composés du vin reste élevée. C'est pourquoi nous observons une diminution en ellagitanins totaux pour le vin élevé au contact des staves les moins riches en ellagitanins et une stabilisation pour les deux autres modalités.

Après 4 mois d'élevage du vin au contact avec les bois classifiés par NIRS, une bonne corrélation entre la classification des bois et la concentration de chaque ellagitanin déterminée par HPLC-MS sur le vin non hydrolysé est observée (Figure 63). En effet, après 4 mois d'élevage, la somme des concentrations de 4 ellagitanins (castalagine, vescalagine, grandinine et roburine E) du vin élevé au contact avec les bois du groupe IP 13 est plus faible ( $1,98 \pm 0,10$  mg éq. vescalagine/L de vin rouge) que celles retrouvées dans le vin élevé au contact avec les bois du groupe IP 32 ( $2,98 \pm 0,16$  mg éq. vescalagine/L de vin rouge) et IP 50 ( $5,83 \pm 0,34$  mg éq. vescalagine/L de vin rouge) (Figure 63).

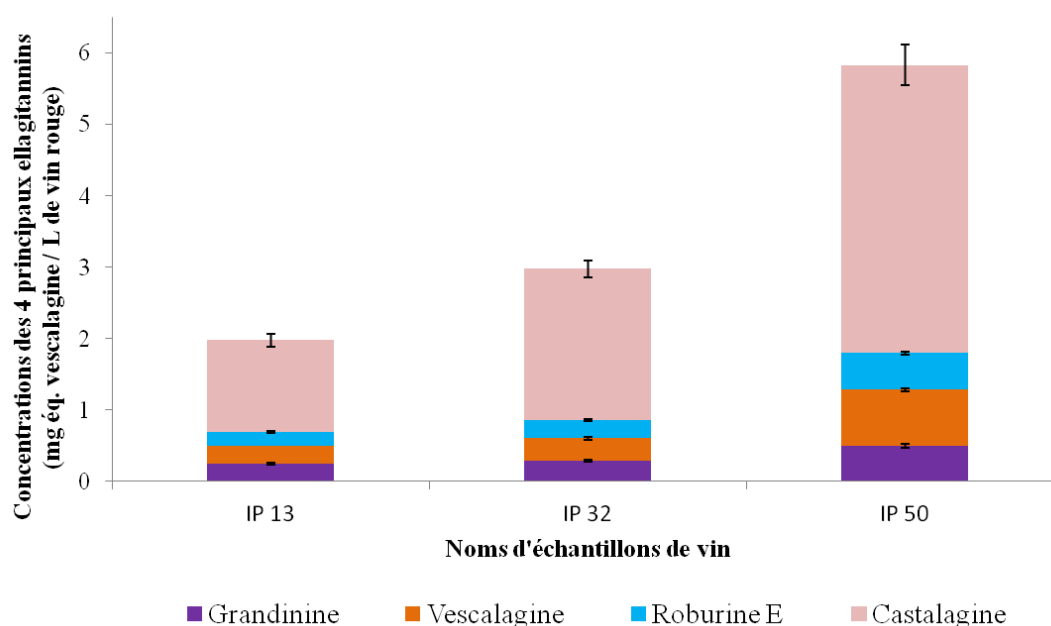


Figure 63 : Concentrations des 4 principaux ellagitanins dans le vin (CS/Merlot) après 4 mois d'élevage

La composition de ces 4 ellagitanins dans le vin évolue également. En effet, après 4 mois d'élevage elle n'est pas la même que celle observée dans le bois. Par exemple la proportion de la castalagine augmente puisqu'après 4 mois, celle-ci représente en moyenne  $68,97\% \pm 1,86\%$  des 4 ellagitanins alors qu'elle n'était en moyenne que de  $49,73\% \pm 4,20\%$  dans le bois. La vescalagine, elle, voit sa part diminuer puisqu'elle passe de  $23,77\% \pm 3,30\%$  en moyenne dans le bois à  $11,93\% \pm 1,32\%$  dans le vin (Figure 64). Ces différences de variations confirment la plus grande stabilité et la tendance de la castalagine à moins réagir avec les

composés du vin que pour la vescalagine comme cela a déjà été indiqué [45, 71, 156, 379]. En effet, il a été prouvé que la castalagine ne réagissait pas avec les flavanols ou les anthocyanes comme c'est le cas pour la vescalagine qui forme des adduits tel que les acutissimines, les épiacutissimines [71, 166, 380] ou les anthocycanoellagitanins [71, 167, 168].

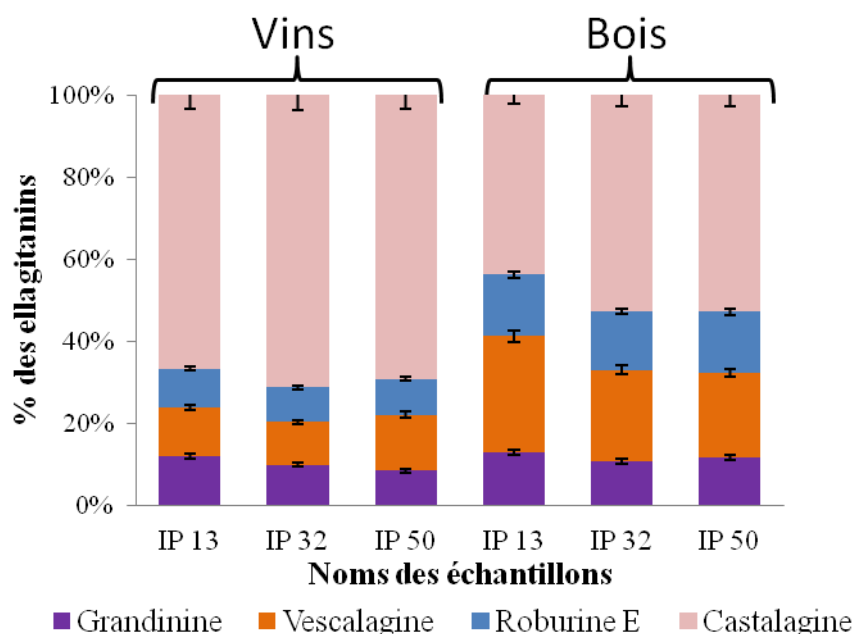


Figure 64 : Composition des ellagitanins dans le vin et le bois

## 1.5. Analyses sensorielles

Après avoir caractérisé les teneurs en ellagitanins dans le bois puis dans le vin, les impacts organoleptiques des différentes concentrations en ellagitanins du vin sont étudiés en réalisant des profils sensoriels. Cette évaluation qui s'est déroulée dans une salle de dégustation équipée de boxes séparés, s'est concentrée sur le profil des trois vins au niveau de leurs arômes, de leurs goûts et des sensations perçues au nez et en bouche. A l'issue des dégustations, les juges, au nombre de 10, décrivent le vin élevé au contact des staves du groupe IP 50 avec une intensité des arômes boisés plus importante ( $p < 0,01\%$ ) notamment avec plus d'épicé ( $p < 0,2\%$ ) de grillé ( $p < 0,4\%$ ) et de fumé ( $p < 0,07\%$ ). (Figure 65). Cependant, ces arômes boisés n'ont pas d'impacts négatifs sur l'intensité du fruité au nez ( $p > 15\%$ ). De plus, ce vin dont les concentrations sont les plus élevées en ellagitanins, est décrit comme significativement plus rond ( $p < 0,3\%$ ) et plus ample ( $p < 0,9\%$ ) (Figure 65). Il est également apparu en bouche que les arômes de fruit et l'amertume ne sont pas significativement impactés. Néanmoins l'astringence d'un vin IP 50 est jugée comme légèrement plus forte ( $p < 10\%$ ). Les faibles concentrations en ellagitanins retrouvées dans les vins expliquent certainement ces caractéristiques.

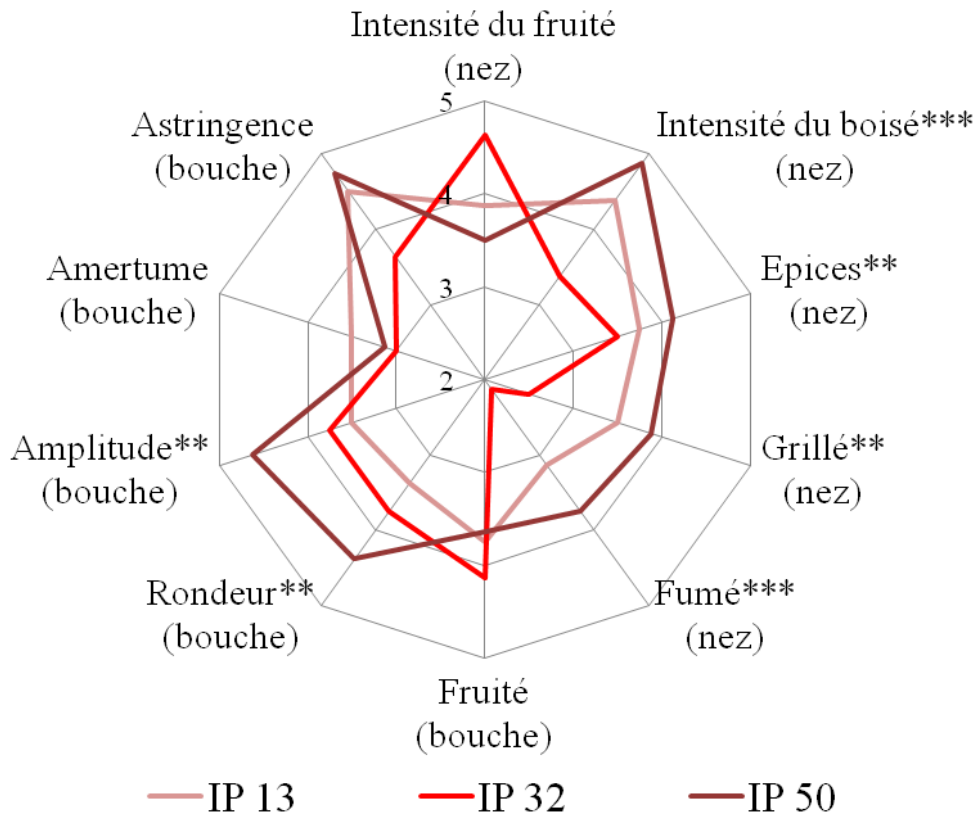


Figure 65 : Impacts organoleptiques sur le vin de la classification des bois après 4 mois d'élevage

\* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$

Cet essai a permis de voir la bonne corrélation entre la classification Oakscan® et les teneurs en ellagitanins des bois. De plus, une corrélation similaire entre les staves classifiées par NIRS et les concentrations en ellagitanins retrouvés dans le vin élevé au contact de ces bois a été observée. Ces résultats permettent de montrer que la classification NIRS des bois est pertinente et permet au vigneron de mieux contrôler l'apport tannique et organoleptique de la barrique. En effet, les impacts organoleptiques sur la rondeur et l'amplitude sont directement corrélés aux teneurs en ellagitanins des vins. Cette classification NIRS semble également corrélée aux concentrations d'autres composés du bois dont les influences sur les arômes boisés jouent un rôle plus direct.

## **2. Etude sur deux vins d'assemblage Cabernet sauvignon/Merlot du millésime 2010**

Afin de confirmer les résultats obtenus lors de l'élevage d'un assemblage du même type que le millésime 2008 (CS/Merlot (50/50) (vol/vol)), un plan d'essai similaire a été mis en place en 2010 dans le même château sur deux vins (CS/Merlot (50/50) (vol/vol)) d'IPT différents (52,2 et 66,1). De plus, la recherche des composés aromatiques (Furfural, 5-Methylfurfural, 5-Hydroxymethylfurfural, alcool Furfurylique, *cis* et *trans*-methyloctalactone, Vanilline, Syringaldehyde, Guaiacol, 4-Methylguaiacol, 4-Ethylguaiacol, Eugenol, Isoeugenol, Syringol, 4-Ethylphenol, 4-Vinylphenol, 4-Vinylguaiacol) susceptibles de jouer un rôle sur les caractéristiques organoleptiques du vin a été réalisée.

### **2.1. Caractéristiques du vin**

Les raisins de CS et le Merlot ont été récoltés mécaniquement en septembre 2010 sur le territoire de l'appellation Malepère (Aude). La vinification des deux vins s'est déroulée par la suite de manière séparée et en parallèle. Les jus issus des grappes de raisin CS et de Merlot sont encuvés dans une cuve inox de 40 hL. La fermentation alcoolique se déroule à 25°C pendant environ 10 jours à l'aide de levures (ICV K1®, Lallemand) et d'un nutriment pour levures (Fermaid E, Lallemand). Ensuite, durant deux mois, une fermentation malolactique grâce à un kit enzymatique (kit FML Expertise® Extreme (bactéries *Oenococcus Oeni* + nutriment)) est réalisée. En janvier 2011, le vin obtenu est soutiré puis sulfité (Tableau 22). Lors de la vinification, seuls deux paramètres différent entre les deux vins afin d'obtenir deux IPT différent. Tout d'abord, dans la cuve destiné à produire un vin avec un haut IPT, une saignée de 20% du marc de Merlot est réalisée afin d'augmenter l'IPT du jus. Puis, dans cette même cuve, un assemblage des vins de gouttes et de presse du Merlot et du CS est effectué afin d'atteindre un IPT du vin de 66,1.



Analyses des paramètres classiques					
Vins	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC
IPT 52,2	4,24 ± 0,02	2,88 ± 0,01	272,13 ± 0	74,63 ± 0,01	1,22
IPT 66,1	4,51 ± 0,07	4,02 ± 0,01	187,69 ± 0	79,81 ± 0,01	1,46
Vins	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)		
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)
IPT 52,2	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64
IPT 66,1	1,68	0,84	39,77	47,23	13,00

Analyses des tannins moléculaires							
Vins	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatéchine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
IPT 52,2	14,17 ± 0,35	5,46 ± 0,14	26,63 ± 0,67	3,06 ± 0,08	8,71 ± 0,22	14,48 ± 0,36	1,55 ± 0,04
IPT 66,1	3,2 ± 0,08	22,27 ± 0,56	21,41 ± 0,54	3,34 ± 0,08	9,73 ± 0,24	11,17 ± 0,28	4,02 ± 0,1

Analyses des anthocyanes moléculaires						
Vins	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)
IPT 52,2	11,47 ± 0,29	2,31 ± 0,06	8,38 ± 0,21	3,12 ± 0,08	24,59 ± 0,61	49,86 ± 1,25
IPT 66,1	3,65 ± 0,09	2,22 ± 0,06	5,32 ± 0,13	2,37 ± 0,06	11,37 ± 0,28	24,93 ± 0,62
Vins	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)
	IPT 52,2	2,09 ± 0,05	10,21 ± 0,26	1,94 ± 0,05	5,49 ± 0,14	12,3 ± 0,31
IPT 66,1	1,91 ± 0,05	6,58 ± 0,16	1,88 ± 0,05	4,73 ± 0,12	8,49 ± 0,21	6,62 ± 0,17

Analyses FOSS						
Vins	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH
IPT 52,2	553 ± 2	0,99 ± 0,01	14,12 ± 0,01	1 ± 0,01	1,3 ± 0,13	3,56 ± 0,01
IPT 66,1	525 ± 3	0,99 ± 0,01	14,17 ± 0,01	0,9 ± 0,03	1,4 ± 0,06	3,61 ± 0,01
Vins	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IP (Indice)
	IPT 52,2	3,69 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,01 ± 0,01	1,18 ± 0,01	20 ± 1
IPT 66,1	3,61 ± 0,01	0,3 ± 0,01	0,01 ± 0,02	1,19 ± 0,01	22 ± 1	66,1

Tableau 22 : Caractéristiques des vins issus de l'assemblage (CS/Merlot (50/50))

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-*O*-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-*O*-glucoside, Pt-3-glc ; pétonidine-3-*O*-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-*O*-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-*O*-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-*O*-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-*O*-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 2.2. Mise en place de l'essai

Les staves utilisées sont constituées des deux principales espèces de chêne Européen ; *Quercus robur* et *Quercus petraea* provenant de la forêt de Vibraye dans la Sarthe (France). Elles avaient préalablement subi un séchage naturel de 18 mois sur le parc de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France). La classification de ces bois est divisée en 3 groupes organisés en fonction de leur indice polyphénolique ; un groupe IP 25 (IP = 25 ± 2,6), un groupe IP 43 (IP = 43 ± 7,2) et un groupe 61 (IP = 61 ± 9,8). Avant la mise au contact avec le vin, les staves ont subi la même chauffe au sein d'un four industriel à convection dont le temps de la température correspondaient à la chauffe « moyenne plus » (temps de chauffe très long (80 min) avec une température basse et un bousinage avec couvercle (T°max lors du bousinage = 280°C)) de l'entreprise. Puis, ces bois, sous la forme de 9 staves (960 X 47 X 7 mm) de même classe, sont ajoutées à chaque cuve (Figure 66).

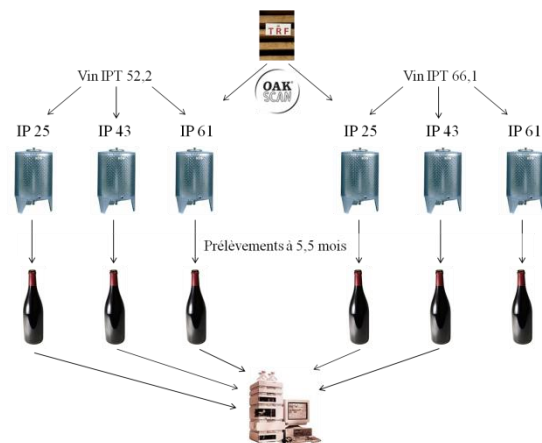


Figure 66 : Schéma du plan d'essai sur le vin CS/Merlot (50/50 (vol/vol)) (millésime 2010)

### 2.3. Analyses des ellagitanins dans les vins

L'analyse des ellagitanins dans les vins est effectuée après 5,5 mois de contact du vin avec les staves classifiées. Les résultats montrent que le vin, dont l'indice de polyphénol totaux (IPT) est de 52,2, élevé au contact des staves classées dans le groupe IP 25 a une concentration en ellagitanins de  $2,65 \pm 0,26$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge alors que le même vin élevé avec les staves des groupes IP 43 et IP 61 ont respectivement des niveaux d'ellagitanins de  $3,07 \pm 0,49$  et  $3,76 \pm 0,09$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 67). Comme pour l'essai précédent, plus les staves (au contact avec un vin) sont riches en polyphénols, plus la teneur en ellagitanin du vin sera importante car l'apport tannique du bois est croissant.

Un phénomène similaire est observé pour le vin ayant un IPT de 66,1. En effet, le vin élevé avec les staves des groupes IP 25, IP 43 et IP 61 a respectivement des concentrations de  $1,84 \pm 0,17$ ,  $2,21 \pm 0,26$  et  $3,34 \pm 0,19$  mg d'ellagitanins en équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 67).

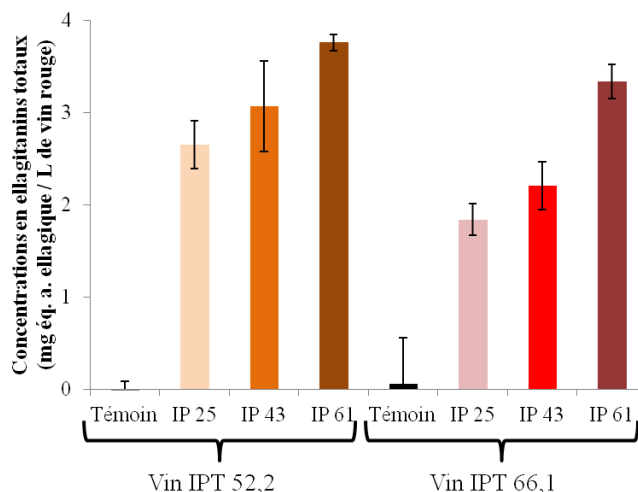


Figure 67 : Concentrations en ellagitanins dans les deux vins issus de l'assemblage CS/Merlot (50/50)

En comparant les deux vins élevés au contact des staves du même groupe comme la modalité vin IPT 52,2 élevé au contact avec les staves IP 25 et le vin IPT 66,1 élevé au contact avec les staves IP 25, la teneur en ellagitanins est toujours plus faible dans le vin avec le plus fort IPT. Cette richesse en ellagitanins est en moyenne diminuée de  $23,25 \pm 8,65\%$  pour un IPT augmenté de 21,03% (Figure 67). L’hypothèse qui peut être émise pour expliquer cette diminution est que les ellagitanins se trouvant dans le vin le plus riche en polyphénols, notamment en tanins et anthocyanes, devraient réagir avec ces derniers de manière plus importante pour former de nouveaux composés (flavano-anthocyanes, acutissimines...).

## 2.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin

Le vin extrait de nombreux composés aromatiques du bois ce qui lui apporte une complexité lors de l’élevage. Les  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactones *cis* et *trans* ou whisky-lactones, la série des aldéhydes furaniques (furfural, 5-méthylfurfural et alcool furfurylique), ainsi que l’eugénol, le guaiacol, le methyl-4-guaiacol et les teneurs en vanilline ainsi qu’en syringol ont donc été quantifiés dans le vin par chromatographie en phase gazeuse (laboratoire Exact, Mâcon) (cf chapitre 2, 3.9.) (Tableau 23).

Composés aromatiques du bois ( $\mu\text{g/L}$ )	Vin IPT = 52,2			Vin IPT = 66,1			Seuils de perceptions ( $\mu\text{g/L}$ de vin rouge)
	IP 25	IP 43	IP 61	IP 25	IP 43	IP 61	
<i>cis</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	117	203	< 10	124	181	< 10	320
<i>trans</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	26	109	< 10	22	87	< 10	74
Furfural	<b>309</b>	<b>494</b>	<b>783</b>	1649	2435	2067	20000
5-méthylfurfural	447	624	570	463	596	480	45000
Alcool furfurylique	4327	4054	4796	789	545	1352	45000
Guaiacol	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	12	12	12	10
4-méthylguaiacol	<b>15</b>	<b>19</b>	<b>26</b>	<b>15</b>	<b>19</b>	<b>23</b>	20
Eugenol	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	500
Vanilline	<b>314</b>	<b>316</b>	<b>341</b>	325	276	320	320
Syringol	<b>30</b>	<b>35</b>	<b>37</b>	29	28	35	1000

Tableau 23 : Concentrations en composés aromatiques d’origine du bois de chêne dans les vins issus des assemblages CS/Merlot (50/50) en fonctions de l’IP des bois

Une corrélation entre les IP des bois et la somme des teneurs en aldéhydes furaniques (furfural, 5-méthylfurfural et alcool furfurylique) dans le vin est observée (Tableau 23). Ces aldéhydes furaniques qui proviennent de la dégradation thermique des hémicelluloses du bois, ont un impact sur la perception des arômes de type grillé et de café torréfié.

Le guaiacol, le methyl-4-guaiacol et le syringol qui proviennent de la décomposition thermique de la lignine sont perçus comme des descripteurs d’arômes d’épices et des notes fumées. Le gaïacol et le methyl-4-guaiacol possèdent des seuils de perception faibles de 10 à

20 µg/L [79, 369]. Or, dans notre essai, la concentration du guaiacol dans le vin est toujours supérieure ( $\geq 12$  µg/L) à son seuil et celle du methyl-4-guaiacol est également supérieure à son seuil de perception dans le vin élevé au contact des staves IP 61 ( $\geq 26$  µg/L) (Tableau 23). Les impacts de ces composés aromatiques sur les caractéristiques organoleptiques des vins lors des dégustations sont donc attendus.

Le syringol, dont le seuil de perception est de 1000 µg/L [79, 372], reste dans des concentrations très inférieures à son seuil de perception puisque sa concentration maximale retrouvée est d'environ 40 µg/L (Tableau 23). Malgré tout, il pourrait avoir des effets sur les perceptions fumé et épicé par synergie avec d'autres molécules.

De plus, les concentrations de ces 3 composés sont corrélées à l'IP des bois. Plus l'IP est élevé, plus les teneurs de ces composés aromatiques (guaiacol, methyl-4-guaiacol, syringol) retrouvées dans le bois sont importantes (Tableau 23). La classification NIRS effectuée par Oakscan® permet de distinguer, non seulement les bois en fonction de leur teneur en ellagitanins, mais aussi en fonction de la composition macromoléculaire (cellulose, hémicellulose, lignine) du bois qui part thermolyse produit des composés aromatiques.

La vanilline, molécule à l'arôme de vanille (seuil de perception de l'ordre de 320 µg/L) semble corrélée avec l'IP du bois dans le vin avec un IPT de 52,2 (Tableau 23) ou elle est proche ou supérieur de son seuil de perception. L'expression du caractère vanillé que peut procurer le boisage est aussi lié à la présence des whisky-lactones qui augmentent la perception du vanillé [373]. Or les concentrations en whisky-lactones suivent les teneurs des IP du bois sauf dans la modalité IP 61 (Tableau 23). L'odeur de vanille doit donc être perçue plus fortement dans les vins élevés au contact de l'IP 25 et 43 que dans celui élevé au contact de bois classés dans le groupe IP 61.

## **2.5. Analyses sensorielles**

Les dégustations montrent les impacts de la classification des bois sur les caractéristiques organoleptiques des vins avec dans la majorité des cas, peu de différences en fonctions de l'IPT des vins. Au nez, la classification des bois entraîne des modifications des perceptions du boisé. En effet, pour les deux types de vin, IPT 52,2 et 66,1, les intensités du boisé, de l'épicé, du grillé et du fumé augmentent de manière corrélées avec l'IP des bois. Ainsi, les vins élevés avec les bois dont les IP sont les plus forts, sont jugés avec un boisé en nez plus intense ( $p < 0,1\%$ ), ainsi que plus épicé ( $p < 5\%$ ), plus grillé ( $p < 1\%$ ) et plus fumé ( $p < 1\%$ ) pour les deux vins. En bouche, l'impact des IPT des vins se révèlent plus important qu'au nez. En effet, même si les deux vins élevés au contact des bois les plus riches en

composés extractibles sont jugés comme légèrement plus astringent ( $p < 5\%$ ), l'amertume et la rondeur sont impactées de manières différentes. L'astringence augmente de manière perceptible lorsque le seuil de 3 mg/L d'ellagitanins totaux est dépassé (vins élevés au contact des staves du groupe IP 61) (Figure 68) pour des vins dont les IPT sont compris entre 52,2 et 66,1. La rondeur du vin dans le cas où l'IPT est le plus faible (IPT = 52,2), est décrite comme plus importante ( $p < 5\%$ ) lorsque ce dernier est élevé avec les staves les plus riches (IP = 61) alors qu'elle n'est pas impactée pour le vin d'IPT de 66,1 (Figure 68 A). Elle pourrait être expliquée par des molécules du bois autres que celles étudiées dans cette étude comme le maltol [381], le cyclotène ou les quercotriterpénosides [127] dont les concentrations pourraient être corrélées à l'IP des bois. Ainsi, dans les vins les moins chargés en composés polyphénoliques du raisin, ils pourraient s'exprimer alors qu'ils seraient « masqués » dans les vins plus chargés. A l'inverse, l'amertume, plus directement impactée par les ellagitanins, est significativement augmentée ( $p < 5\%$ ) dans le vin le plus riche en composés phénoliques du raisin (IPT 66,1) et élevée au contact avec les bois les plus riches (IP 61) (Figure 68 B) ; ce qui laisse supposer un effet cumulatif entre les tanins du raisin et ceux du bois sur l'amertume.

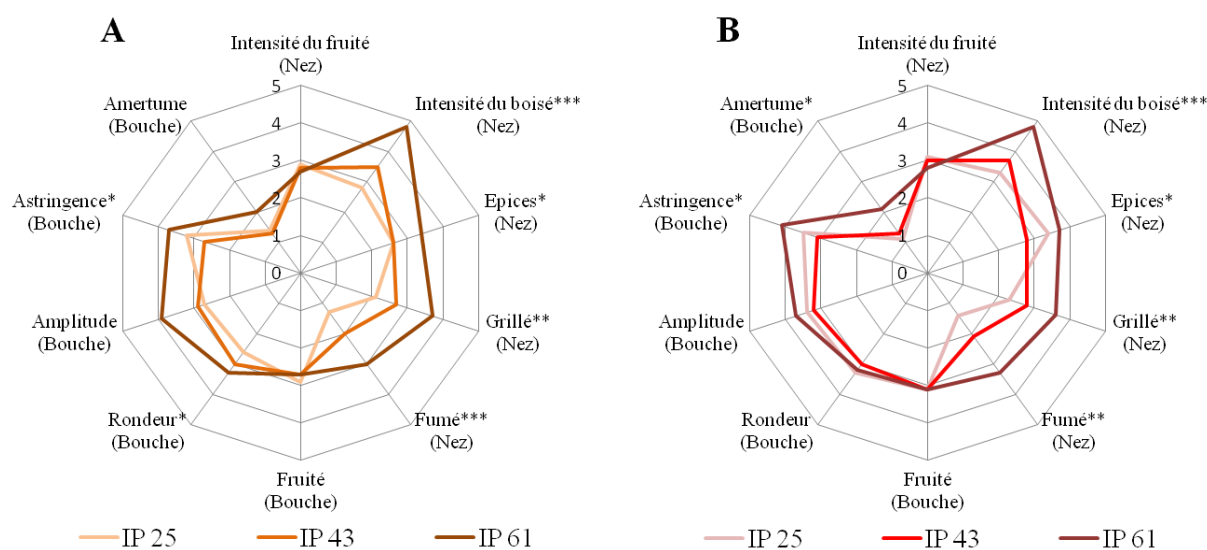


Figure 68 : Impacts organoleptiques de la classification des bois après 5,5 mois au contact avec les vins d'IPT 52,2 (A) et 66,1 (B)

\* = significatif à 5%, \*\* = significatif à 1%, \*\*\* = significatif à 0,1%

### **3. Conclusion**

Lors de ces essais sur le vin élevé au contact de produits alternatifs type stave, l'impact de la classification des bois par NIRS a pu être apprécié. Tout d'abord, au niveau de la composition des bois utilisés en tonnellerie, de grandes hétérogénéités des concentrations en ellagitanins ainsi que de leur composition sont confirmées. De plus, l'appareil proche infrarouge Oakscan® a permis de classer les bois en fonction de leur indice polyphénolique et plus précisément en fonction de leurs teneurs en ellagitanins. Puis, la cinétique d'extraction des ellagitanins du bois de chêne par le vin rouge s'est révélée être différente en fonction des teneurs initiales en ellagitanins des bois. Le maximum de concentration en ellagitanins est atteint plus rapidement dans le vin élevé au contact des bois les moins riches avec un niveau plus faible que ceux observés lorsque l'élevage se déroule au contact de bois plus riches. Certains composés aromatiques (les  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactones *cis* et *trans* ou whisky-lactones, la série des aldéhydes furaniques, l'eugénol, le guaiacol, le méthyl-4-guaiacol, le syringol et les teneurs en vanilline) retrouvés dans le vin sont également corrélés avec la classification NIRS des bois. Lors des dégustations, ces différences de concentrations se sont révélées conduire à des impacts significatifs sur plusieurs descripteurs comme l'intensité du boisé, l'épicé, le fumé, le grillé, le boisé en bouche et parfois la rondeur, l'amplitude, l'astringence, l'amertume et la structuration du vin (Tableau 24). Ces derniers augmentent de manière corrélée avec les IP du bois mais peuvent être influencés par l'IPT du vin principalement pour les descripteurs en bouche comme la rondeur ou l'amertume.

Appellation	Assemblages	Millésimes	IP barriques	IPT vin	Nombres de mois d'élevage	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Epicé (nez)	Grillé (nez)	Fumé (nez)	Fruité (bouche)	Rondeur (bouche)	Amplitude (bouche)	Astringence (bouche)	Amertume (bouche)
Malepère	CS / Merlot (50 / 50)	2008	13 ; 50	60	4	→	→→→→ + 11%	→→→→ + 10%	→→→→ + 11%	→→→→ + 20%	→	→→→→ + 30%	→→→→ + 32%	→ + 6%	→
Malepère	CS / Merlot (50 / 50)	2010	25 ; 61	52,2	5,5	→	→→→→ + 71%	→→→→ + 30%	→→→→ 76%	→→→→ + 130%	→	→	→→→→ + 44%	→→→→ + 15%	→
Malepère	CS / Merlot (50 / 50)	2010	25 ; 61	66,1	5,5	→	→→→→ + 46%	→→→→ + 9%	→→→→ + 57%	→→→→ + 136%	→	→	→	→→→→ + 117%	→→→→ + 91%

→ impact non significatif, → p < 10%, →→ p < 5%, →→→ p < 1%, →→→→ p < 0,1%

Tableau 24 : Résumé des impacts de l'augmentation des IP des barriques de bois de chêne (IP 13, 32, 50 pour le CS/Merlot 2008 et IP 25, 43, 61 pour le CS/Merlot 2010) sur les qualités organoleptiques des vins rouges  
les % correspondent à la différence de la moyenne des notes des dégustations entre les barriques ayant le plus faible et le plus fort IP





**Chapitre 4 : Etude de la cinétique d'extraction  
et des impacts organoleptiques des ellagitanins  
du bois de chêne sur le vin lors d'un élevage en  
barriques neuves**

# 1. Etude sur un vin de Cabernet sauvignon (CS)

## 1.1. Caractéristiques du vin

Le raisin de CS est récolté en Septembre 2009 dans l'appellation Pessac-Léognan (France). La fermentation du moût se déroule à 25°C en cuves inox de 156 hL dans lesquelles 100hL de moût sont introduits. Un levurage (Actiflore cerevisiae®, Laffort) à 11,28 g/hL est effectué, complété par un ajout d'azote (THIAZOTE®, Laffort) 4 jours plus tard à 16,92 g/hL. Une fois la fermentation alcoolique terminée, une fermentation malolactique est effectuée pendant 60 jours. En décembre 2009, le vin 100% CS (Tableau 25) est mis dans plusieurs barriques dont les caractéristiques sont données plus bas. C'est lors de cet élevage qui durera 24 mois, que la cinétique d'extraction des ellagitanins du bois est suivie chaque mois et que des prélèvements sont réalisés puis conservés à 16°C pour effectuer des dégustations à 6, 12, 18 et 24 mois.

Analyses des paramètres classiques							
Vins	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC		
CS- T0	4,08 ± 0,31	3,22 ± 0,59	787,00 ± 26,46	80,57 ± 4,78	1,22		
Vins	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)				
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)		
CS- T0	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64		
Analyses des tannins moléculaires							
Vins	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatéchine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
CS- T0	7,56 ± 0,19	25,68 ± 0,64	27,91 ± 0,70	4,50 ± 0,11	11,07 ± 0,28	13,54 ± 0,34	4,39 ± 0,11
Analyses des anthocyanes moléculaires							
Vins	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)	
CS- T0	54,62 ± 1,37	3,20 ± 0,08	29,80 ± 0,75	10,31 ± 0,26	171,73 ± 4,29	269,67 ± 6,74	
Vins	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)	
CS- T0	5,31 ± 0,13	70,63 ± 1,77	3,42 ± 0,09	21,03 ± 0,53	75,95 ± 1,90	24,45 ± 0,61	
Analyses FOSS							
Vins	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH	
CS- T0	502,61 ± 65,64	0,99 ± 0,01	12,92 ± 0,01	0,71 ± 0,04	0,53 ± 0,03	3,85 ± 0,01	
Vins	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)	
CS- T0	3,01 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,01 ± 0,01	1,68 ± 0,02	16,71 ± 0,01	52,71 ± 0,51	

Tableau 25 : Caractéristiques du vin 100% CS à la mise en barrique

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-O-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-O-glucoside, Pt-3-glc ; pétonidine-3-O-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-O-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-O-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-O-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-O-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 1.2. Mise en place de l'essai

Les bois utilisés pour constituer les barriques sont constitués de deux espèces européennes, *Quercus robur* et *Quercus petraea* provenant des forêts de Signy (Ardennes, France), Hagueneau (Bas-Rhin, France) et Gourgeon Lavoncourt (Haute-Saône, France). La maturation des bois s'est déroulée sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France), à l'air libre pendant 18 mois. Lors du processus de fabrication des barriques, les bois sont classés en fonction de leur grain (seul les bois ayant un grain fin (largeur de cerne  $\approx 2$  mm) sont conservés) puis, grâce à Oakscan® [109], en 5 groupes différents par leur indice polyphénolique (IP). Les groupes sont nommés et ont des IP moyens comme décrit ici ; IP 21 (IP =  $21,07 \pm 5,45$ ), IP 26 (IP =  $26,02 \pm 5,72$ ), IP 39 (IP =  $39,03 \pm 6,00$ ), IP 55 (IP =  $55,12 \pm 4,89$ ) et IP 70 (IP =  $70,15 \pm 3,09$ ) (Figure 69). C'est également lors de cette étape qu'une extrémité de chaque douelle (950 x 27 mm (longueur x épaisseurs)) est récupérée pour les analyses chimiques (IP 21, IP 26, IP 39, IP 55). Puis chaque douelle identifiée et classée est assemblée en barrique afin de constituer 10 barriques (2 barriques par groupe d'IP) de type bordelaise (contenance de 225 L). Leurs chauffe correspondent à la « chauffe vin rouge moyenne » (temps de chauffe très long (75 min) avec une température basse et un bousinage ou chauffe de finition, sans couvercle ( $T^{\circ}$  max lors du bousinage  $< 230^{\circ}\text{C}$ )) du tonnelier.

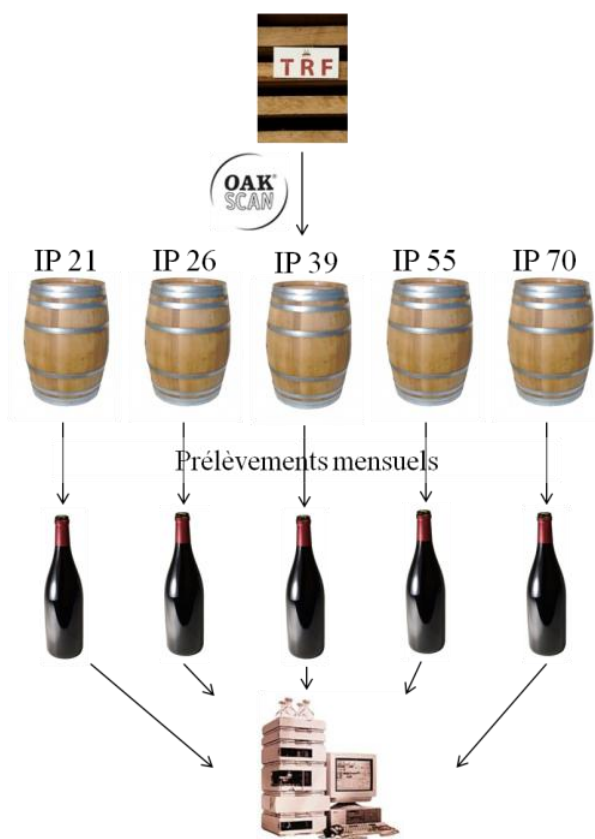


Figure 69 : Schéma du plan d'essai sur le vin 100% CS

## 1.3. Analyses des ellagitanins dans les bois de chêne utilisés

### 1.3.1. Dosage des ellagitanins par hydrolyse acide

Le dosage des ellagitanins des bois est tout d'abord réalisé en quantifiant l'acide ellagique libéré par hydrolyse acide des ellagitanins. Les échantillons de bois analysés sont choisis au hasard au sein de chaque groupe d'IP (15 échantillons analysés par classe d'IP). Comme pour les bois utilisés pour la fabrication des produits alternatifs type staves, une grande hétérogénéité de la concentration en polyphénols des bois est observée puisque celle-ci est comprise entre  $5,95 \pm 0,30$  et  $59,40 \pm 2,97$  mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec (valeur théorique pour l'IP 70) (Tableau 26). Cette grande différence dans les teneurs en ellagitanins des bois était attendue [132, 382] puisque celles-ci dépendent de l'espèce et de l'origine de l'arbre mais aussi du lessivage et de la biodégradation par des micro-organismes durant le séchage naturel des bois [109, 166, 380, 382-386]. De plus, comme observé préalablement (cf chapitre 3, 1.3.) [109, 116], une bonne corrélation entre les analyses chimiques réalisées par hydrolyse acide et la classification NIRS peut être observée ( $p < 5\%$ ) (Figure 70). Les extrémités des classes de bois se chevauchent ce qui est dû à l'utilisation d'analyses dosant les ellagitanins de manières indirectes. En effet, l'analyse proche infrarouge utilise les corrélations entre le spectre des bois et trois analyses qui ont permis de calibrer Oaksan® à savoir l'absorbance à 280 nm, l'indice de Folin-Ciocalteu et l'analyse des ellagitanins par hydrolyse acide d'extrait de bois (cf chapitre 1, 4.4.2.), tandis que l'analyse par hydrolyse acide dose l'acide ellagique libéré par les ellagitanins (cf chapitre 2, 2.4.1.) [109]. C'est pourquoi il peut exister de petites différences entre ces deux analyses. De plus, les groupes IP 21 et IP 26, en raison de leurs proximités (IP différent de seulement 5 points), sont moins bien discriminés ( $10\% > p > 5\%$ ) ce qui montre une des limites de l'analyse NIRS (Figure 70).

Modalités de barriques	IP 21	IP 26	IP 39	IP 55	IP 70
Concentration minimum en ellagitanins totaux (mg d'éq. acide ellagique/g de bois sec)	$5,95 \pm 0,30$	$6,19 \pm 0,13$	$17,65 \pm 0,92$	$23,09 \pm 0,76$	$35,60 \pm 1,78$
Concentration maximum en ellagitanins totaux (mg d'éq. acide ellagique/g de bois sec)	$17,05 \pm 1,07$	$17,39 \pm 0,44$	$26,03 \pm 0,95$	$32,91 \pm 0,98$	$59,40 \pm 2,97$

Tableau 26 : Concentrations extrêmes en ellagitanins totaux des classes d'IP des bois de chêne

Valeurs théoriques pour l'IP 70 déterminées par corrélation entre l'analyse NIRS des bois de la classe IP 70 et l'hydrolyse acide des autres bois

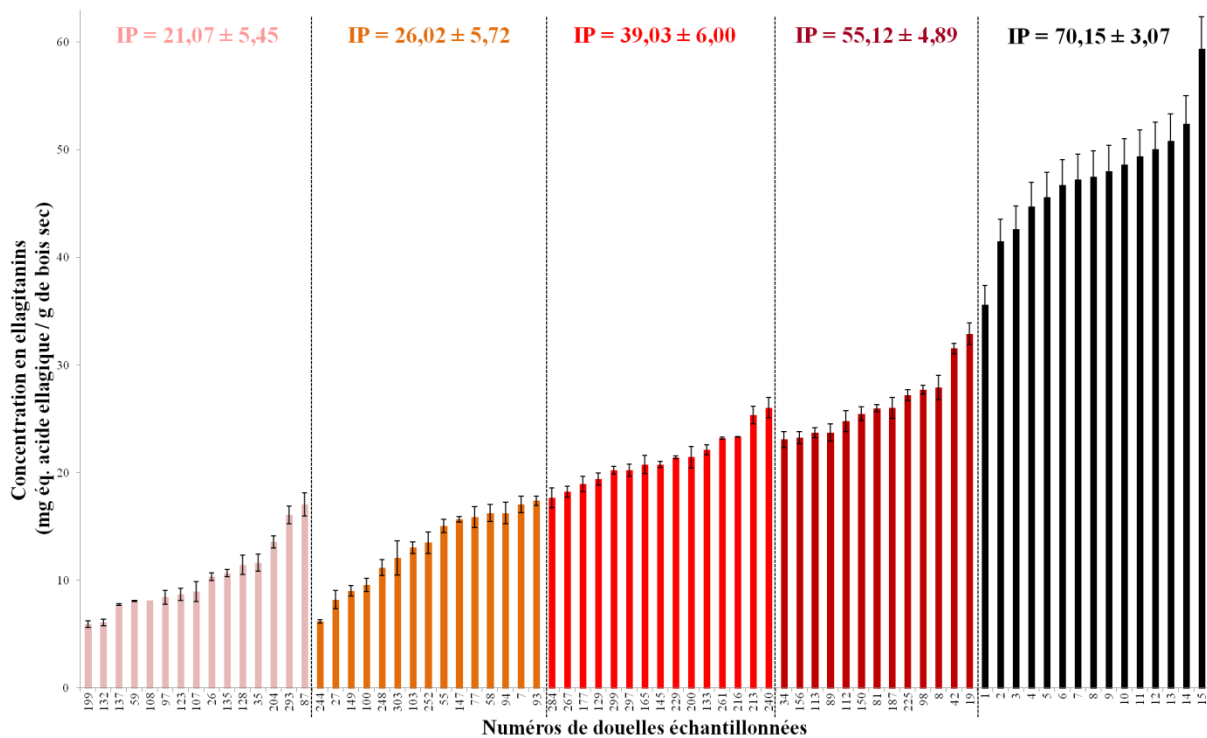


Figure 70 : Concentrations en ellagitanins totaux des bois déterminées par hydrolyse acide puis corrélées aux IP des classes déterminés par NIRS

Valeurs théoriques pour l'IP 70 déterminées par corrélation entre l'analyse NIRS des bois de la classe IP 70 et l'hydrolyse acide des autres bois

### 1.3.2. Dosage des ellagitanins moléculaires

Afin de confirmer les résultats obtenus sur les bois par hydrolyse acide, les huit ellagitanins des bois (castalagine, vescalagine, grandinine et roburines A à E) sont quantifiés par HPLC-UV puis les concentrations de chacun sont corrélées avec la classification NIRS (Figure 71). Comme observé lors de l'analyse par hydrolyse acide, une grande variabilité des teneurs des bois en ellagitanins totaux est observée (Tableau 27) ainsi qu'une forte corrélation avec la classification NIRS ( $p < 0,02\%$ ). De plus, les limites de l'appareil NIRS sont à nouveau montrées puisque les groupes IP 21 et IP 26 ne sont pas clairement différents ( $10\% > p > 5\%$ ). La castalagine et la vescalagine restent les deux ellagitanins principaux avec des pourcentages moyens respectifs de 38,51 et 25,46%. Les autres ellagitanins ; roburine A, roburine B, roburine C, grandinine, roburine D et roburine E sont respectivement représentés en moyenne par 4,86 ; 4,71 ; 4,78 ; 7,59 ; 4,62 et 9,05% (Figure 71). Néanmoins, comme analysé dans d'autres études [116, 382, 383, 385] ou pour des bois utilisés comme produits alternatifs (cf chapitre 3, 1.3.), d'importantes variations de la composition en ellagitanins sont observées dans les bois de chêne classifiés pour la roburine A (0,69 et 10,25%), la roburine B (2,12 et 8,77%) la roburine C (1,92 et 8,91%), la grandinine (4,61 et 15,18%), la roburine D (1,70 et 10,66%), la vescalagine (15,73 et 40,27%), la roburine E (5,75 et 16,81%), et la castalagine (30,03 et 49,50%) (Figure 71). Cette variation de la composition en ellagitanins

n'est pas corrélée à la classification NIRS qui tient compte uniquement du « pool » total d'ellagitanins.

Modalités de barriques	IP 21	IP 26	IP 39	IP 55	IP 70
Concentration minimum en ellagitanins totaux (mg d'éq. castalagine/g de bois sec)	12,58 ± 0,38	9,61 ± 0,30	31,27 ± 1,15	51,95 ± 1,89	104,56 ± 5,23
Concentration maximum en ellagitanins totaux (mg d'éq. castalagine/g de bois sec)	27,79 ± 0,79	42,85 ± 1,36	63,85 ± 0,81	116,49 ± 3,51	188,31 ± 9,42

Tableau 27 : Concentrations extrêmes en ellagitanins moléculaires des classes d'IP des bois  
Valeurs théoriques pour l'IP 70 déterminées par corrélation entre l'analyse NIRS des bois de la classe IP 70 et l'analyse HPLC-UV des autres bois

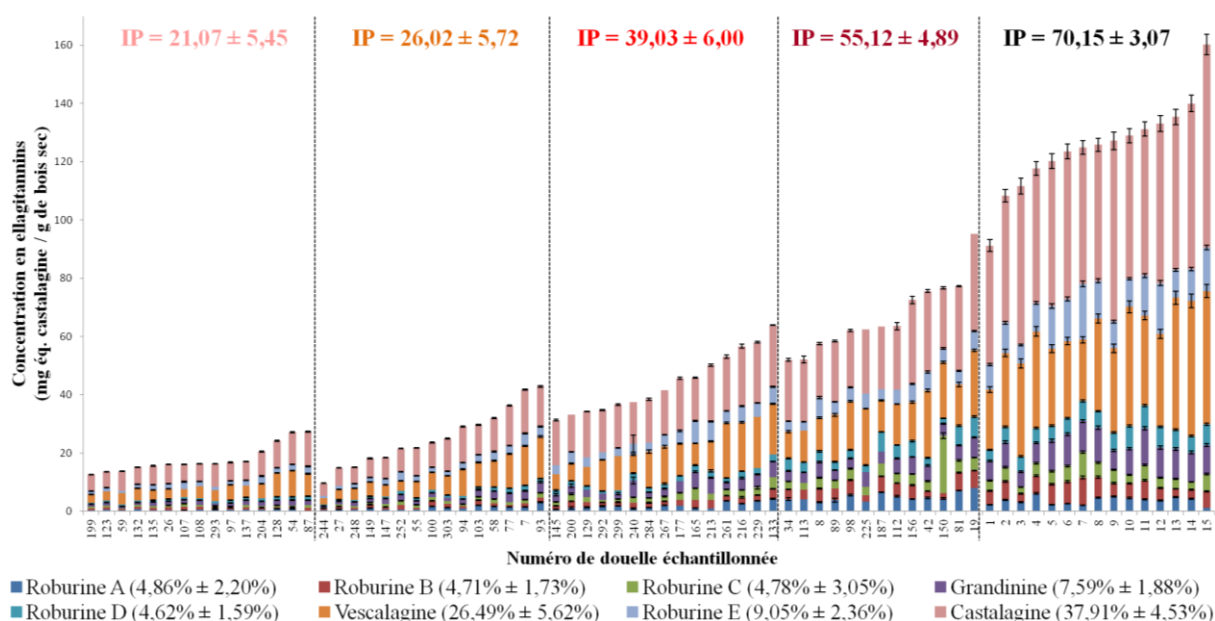


Figure 71 : Concentrations en ellagitanins moléculaire des bois des barriques corrélées aux IP des classes déterminés par NIRS

Valeurs théoriques pour l'IP 70 déterminées par corrélation entre l'analyse NIRS des bois de la classe IP 70 et l'analyse HPLC-UV des autres bois

Ces deux analyses chimiques montrent que la classification NIRS des bois destinés à la fabrication des barriques est plus pertinente que celle de l'espèce [132], de l'origine ou du grain (cf chapitre 1, 1.5.) [1, 155].

#### 1.4. Analyses des ellagitanins dans le vin

Après avoir vérifié la pertinence de la classification des bois et donc celle des barriques en fonction de leur IP, les cinétiques d'extraction et l'évolution des ellagitanins durant l'élevage d'un vin rouge sont suivies chaque mois pendant 24 mois afin de déterminer l'influence de la classification sur les paramètres chimiques du vin.

### 1.4.1. Dosage des ellagitanins par hydrolyse acide

Tout d'abord, les concentrations en ellagitanins du vin sont analysées par hydrolyse acide. Pendant les premiers mois d'élevage, la cinétique d'extraction montre une augmentation de la concentration en ellagitanins du vin quelque soit la barrique. Cette augmentation est le résultat de la pénétration du vin dans le bois qui va solubiliser progressivement les ellagitanins. Cette extraction est significativement différente entre les barriques puisque déjà, au premier mois, le vin élevé dans la barrique avec le plus faible IP (IP 21) présente également la plus faible concentration en ellagitanins ( $0,15 \pm 0,02$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) alors que le même vin élevé dans la barrique IP 70 possède la plus forte concentration en ellagitanins ( $2,24 \pm 0,15$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) (Figure 72). L'extraction des ellagitanins est donc directement corrélée avec l'IP des bois dans toutes les barriques. Après quelques mois, cette augmentation atteint un maximum dans toutes les modalités. Cependant, la date et le niveau de ces maximums sont très différents et corrélés ( $p < 5\%$ ) avec l'IP des fûts (Tableau 28). Ces cinétiques sont le résultat de l'extraction des ellagitanins plus rapide que leur vitesse d'évolution (oxydation, condensation avec les composés du vin) dans les premiers mois. Puis, lorsque les ellagitanins des premiers millimètres du bois sont extraits, la vitesse de solubilisation de ces derniers diminue jusqu'à devenir inférieure à celle de leur évolution. Or, plus le bois est riche en ellagitanins, plus leur vitesse d'extraction restera supérieure à leur vitesse d'évolution ce qui a pour effet de décaler la date d'apparition du maximum d'ellagitanins dans le vin rouge. Ce maximum de concentration reste ensuite relativement stable en fonction de la modalité de la barrique. Cette stabilité s'étale sur 1, 3, 4, 5 ou 5 mois respectivement pour les modalités IP 21, IP 26, IP 39, IP 55 et IP 70 (Figure 72). Donc, plus l'IP du bois est élevé, plus la diminution de la concentration en ellagitanins sera tardive. Cette diminution est également corrélée en fonction de l'IP des barriques puisqu'elle sera plus rapide et plus importante lorsque l'IP diminue. En effet, dans les vins élevés dans les fûts IP 21, IP 26, IP 39, IP 55 et IP 70, la durée de cette diminution et le pourcentage représenté par celle-ci par rapport à la concentration d'ellagitanins maximale sont respectivement de 5 mois et 36%, 7 mois et 35%, 6 mois et 29%, 7 mois et 19% et 8 mois et 22% (Figure 72).

Modalités de barriques	IP 21	IP 26	IP 39	IP 55	IP 70
Concentration maximum en ellagitanins totaux (mg d'éq. acide ellagique/L de vin)	$2,30 \pm 0,05$	$3,48 \pm 0,25$	$4,62 \pm 0,01$	$7,86 \pm 0,58$	$11,56 \pm 0,31$
Nombre de mois d'élevage du maximum de concentration en ellagitanins totaux (mois)	4	6	7	9	12

Tableau 28 : Concentration maximum en ellagitanins du vin

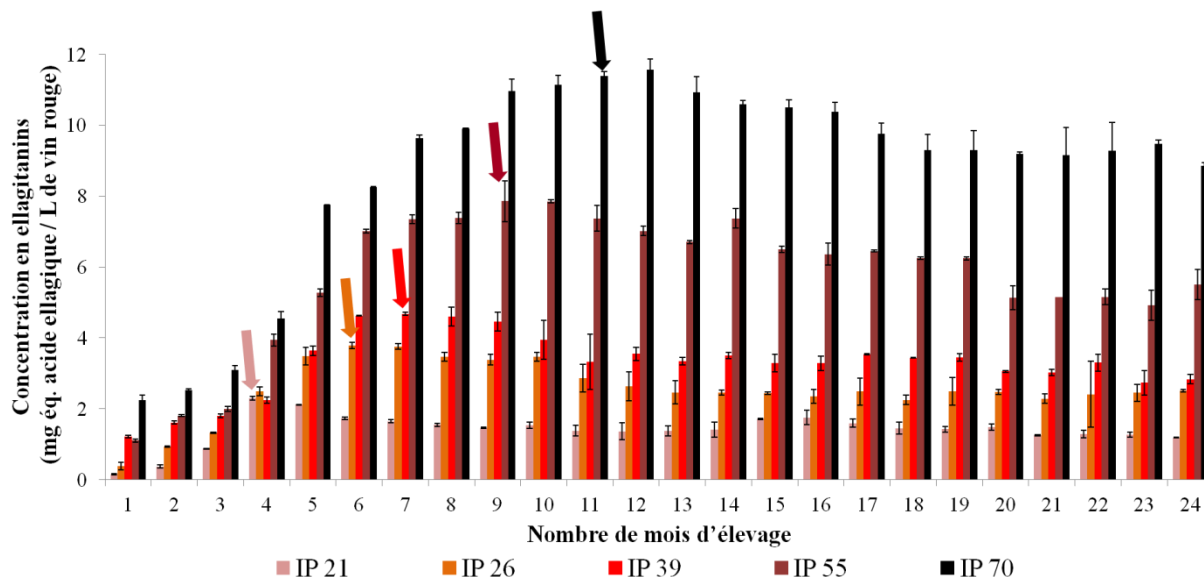


Figure 72 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% CS élevé dans des barriques classifiées par NIRS au cours d'un élevage de 24 mois

### 1.4.2. Dosage des ellagitanins moléculaires

Afin de confirmer les résultats de la cinétique d'extraction des ellagitanins, la composition ellagique des bois est déterminée par HPLC-MS chaque mois sur le vin rouge fractionné. Une augmentation des niveaux d'ellagitanins est observée durant les premiers mois (Figure 73). Comme dans le cas de l'analyse du vin par hydrolyse, l'IP des barriques entraîne une influence significative sur les concentrations en ellagitanins et sur la date et le niveau du maximum d'ellagitanins surtout pour le vin élevé dans les barriques IP 55 et IP 70 ( $p < 5\%$ ) (Figure 73 D et 73 E). En effet, ces maximums de concentrations sont  $4,55 \pm 0,31$  (Figure 73 A),  $11,16 \pm 1,74$  (Figure 73 B),  $14,53 \pm 2,13$  (Figure 73 C),  $24,20 \pm 2,76$  (Figure 73 D) et  $32,56 \pm 1,09$  mg d'équivalent vescalagine/L de vin rouge (Figure 73 E) pour les vins élevés respectivement dans les modalités de fûts IP 21, IP 26, IP 39, IP 55 et IP 70. Puis en raison des réactions entre les ellagitanins et les composés du vin et l'oxygène, la teneur des tanins ellagiques diminue. Les réactions entre les constituants du vin et les ellagitanins peuvent être observées à travers la diminution de la part représentée par la vescalagine et la roburine A dans le vin rouge par rapport aux autres ellagitanins. En effet, celle de la vescalagine passe d'une moyenne de  $26,49 \pm 5,62\%$  dans le bois à  $5,48 \pm 0,33\%$  dans le vin tandis que celle de la roburine A passe de  $4,86 \pm 2,20\%$  dans le bois à  $1,28 \pm 0,31\%$  dans le vin (Figure 73). Les réactions de la vescalagine avec d'autres constituants du vin (tannins, anthocyanes, éthanol...) ont déjà été étudiées [156, 166, 168, 379, 380]. Par contre, la raison de la diminution de la roburine A par des réactions avec les autres molécules du vin restent à déterminer et à modéliser.



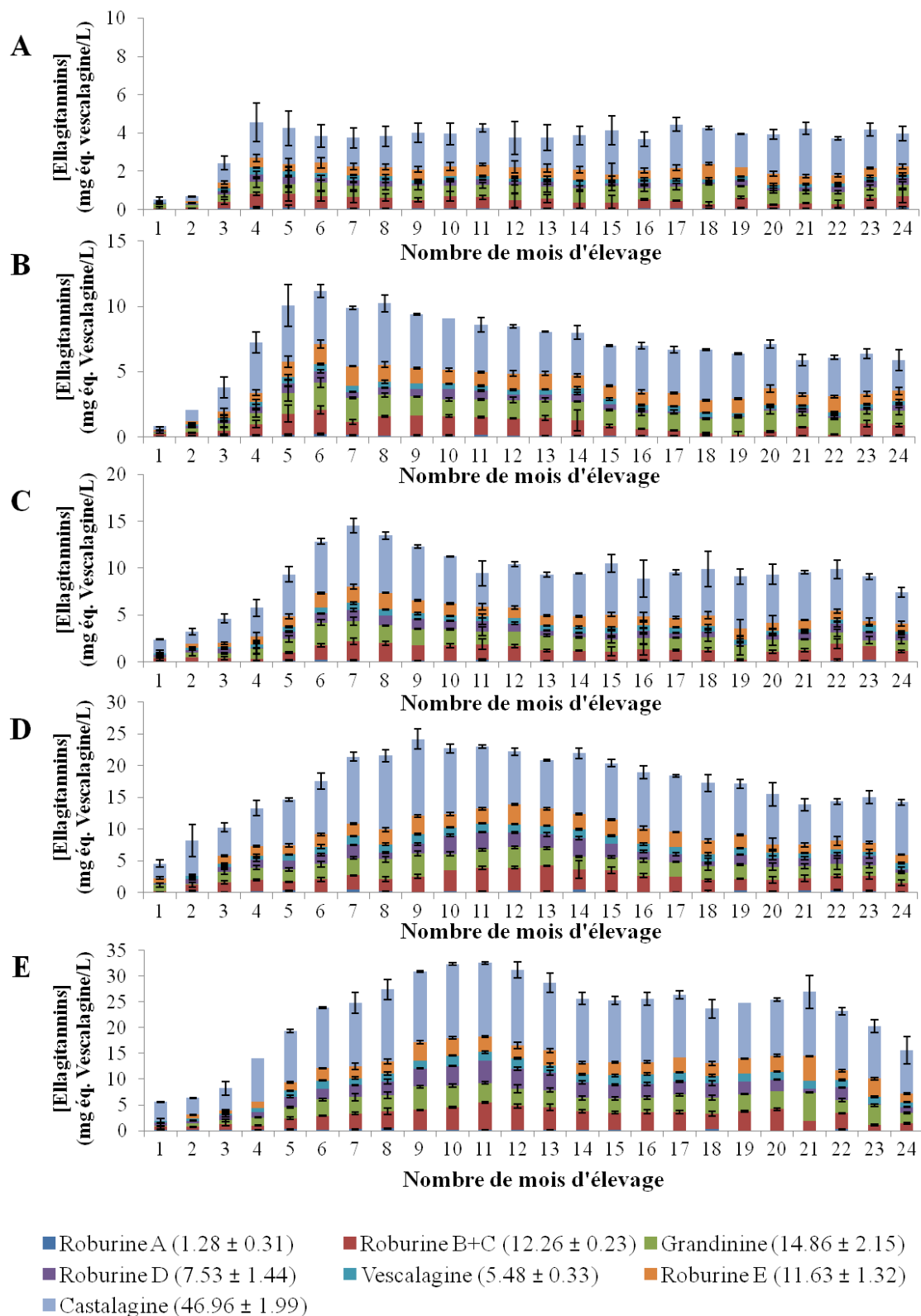


Figure 73 : Cinétique des ellagitanins moléculaires dans un vin rouge 100% CS au cours d'un élevage en barrique

Par ces deux types d'analyses, un modèle entre l'extraction des ellagitanins et leur possibilité de conduire à des réactions avec des composants du vin rouge (lors de l'élevage) est observé. De plus, l'importance des répercussions du classement des bois par Oakscan® sur l'évolution des tanins ellagiques dans le vin est établie. Ces différences pourraient avoir des conséquences sur les propriétés organoleptiques des vins.

## 1.5. Analyses sensorielles

Les impacts organoleptiques de la classification des bois sont observés grâce à des profils sensoriels à 6, 12, 18 et 24 mois d'élevage (Figure 74). Les arômes, le goût et les sensations du vin rouge sont testés par des juges entraînés qui doivent décrire les intensités du fruité et du boisé, le vanillé, l'épicé, le fumé/grillé au nez mais aussi le fruité, l'amertume, l'astringence et l'amplitude en bouche. Les profils aromatiques montrent que les intensités du fruité et du boisé au nez sont significativement impactées par la classification des bois tout au long de l'élevage. L'intensité du boisé augmente ( $p < 5\%$ ) en même temps que l'IP du bois alors que l'intensité du fruité diminue ( $p < 5\%$ ) (Figure 74). Un effet masque des arômes du boisé sur le fruité est certainement observé ici comme cela est déjà noté dans la bibliographie [387]. D'autres arômes du bois sont corrélés avec l'IP des barriques comme le fumé/grillé ( $p < 5\%$ ). Après 24 mois d'élevage (Figure 74 **D**), les juges estiment que l'arôme d'épice augmente ( $p < 0,07\%$ ) et que celui de la vanille diminue ( $p < 3\%$ ) lorsque l'IP du bois augmente. Le bouquet aromatique du vin est donc fortement influencé par la classification des bois par Oakscan®, certainement grâce à une classification concomitante de composés aromatiques ( $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactones *cis* et *trans* ou whisky-lactones, aldéhydes furaniques, eugénol, guaiacol, methyl-4-guaiacol, syringol et vanilline), à celle des ellagitanins, comme observé précédemment (cf chapitre 3, 2.4.). La saveur du vin est également impactée par la classification Oakscan® puisque le fruité en bouche est jugé comme moins important à 6, 12 et 18 mois lorsque le vin est élevé dans des barriques avec des indices polyphénoliques croissant (Figure 74 **A**, **B** et **C**). Comme pour les arômes en nez, un effet masque dû à l'environnement plus boisé du vin lorsque celui-ci est élevé au contact de bois riches en polyphénols pourrait apparaître. Cette diminution du fruité en bouche en fonction de l'IP des bois diminue au cours de l'élevage puisque la significativité de ce descripteur baisse ( $p < 0,4\%$  à 6 mois,  $p < 3\%$  à 12 mois,  $p < 8\%$  à 18 mois) jusqu'à ne plus être significativement impacté après 24 mois d'élevage ( $p < 35\%$ ) ce qui pourrait provenir d'une diminution des concentrations en esters fruités du vin (Figure 74 **D**). En bouche, des impacts plus directement liés aux ellagitanins [26] sont observés sur l'astringence ( $p < 3\%$ ) et l'amertume ( $p < 0,8\%$ ) (Figure 74 **D**). L'amplitude n'est impactée qu'au bout de 24 mois d'élevage dans des barriques classifiées. Celle-ci augmente de manière corrélée avec l'IP des bois ( $p < 2\%$ ) certainement grâce à la solubilisation progressive de composés comme les quercotriterpénosides [127], ou le maltol [381]. Dans notre travail, les effets de la classification des bois de chêne par Oakscan® sur les caractéristiques organoleptiques d'un vin et l'importance de ce nouvel outil sont clairement démontrés.

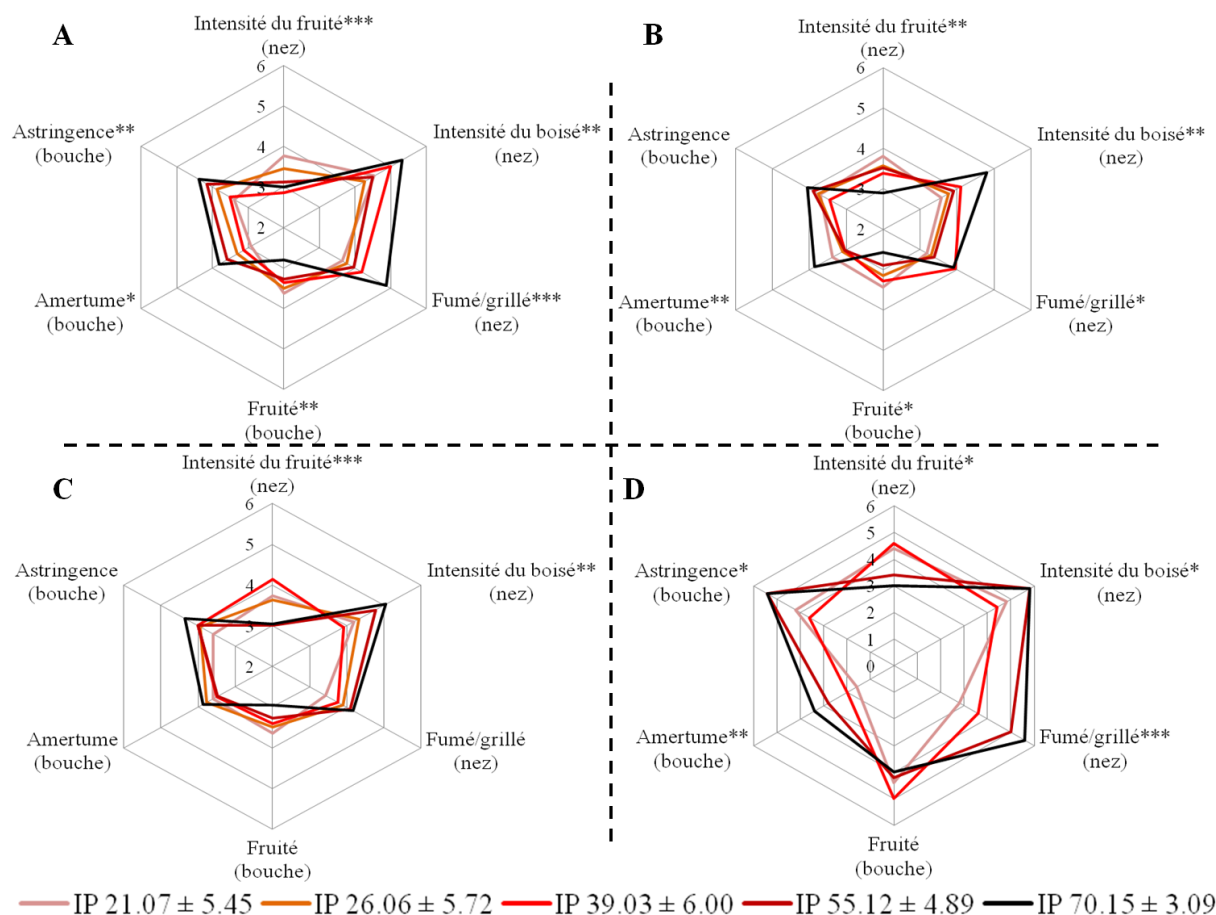


Figure 74 : Impacts organoleptiques sur le vin rouge 100% CS élevé dans des fûts classés en fonction de leur IP **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage, **C** : après 18 mois d'élevage, **D** : après 24 mois d'élevage  
 \* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$

## 1.6. Conclusion

L'importance d'une nouvelle méthode de classification des bois de chêne destinée à l'utilisation en barrique est démontrée dans notre étude. Une bonne corrélation entre la concentration en ellagitanins dans le bois déterminée par hydrolyse acide ou par quantification moléculaire et la classification NIRS est observée ( $p < 0,02\%$ ) et ce lorsque les classes de bois possèdent des différences d'IP de plus de 5 points. De plus, les cinétiques d'extraction et d'évolution des ellagitanins dans un 100% Cabernet sauvignon élevé pendant 24 mois sont également influencées par la classification NIRS ( $p < 5\%$ ). Ces répercussions sur les caractéristiques chimiques du vin entraînent des conséquences sur ses propriétés organoleptiques. En effet, à la fois au nez et en bouche, plusieurs descripteurs comme les intensités du fruité et du boisé, le vanillé, l'épicé, le fumé/grillé mais aussi l'amertume et l'astringence sont significativement différents en fonction de l'IP des bois. La classification des bois dans le but de constituer des barriques en fonction de leur IP va permettre d'avoir un meilleur contrôle sur la concentration en ellagitanins dans le vin et donc un meilleur contrôle des propriétés organoleptiques attendus pour ce dernier.

## 2. Etude sur un assemblage CS/Merlot

### 2.1. Caractéristiques du vin

Les raisins de CS et de Merlot ont été récoltés en Septembre 2009 dans l'appellation Pauillac (France). Cette récolte est particulièrement minutieuse puisque un tri des grains est réalisé à la main. Les fermentations alcoolique et malolactique se déroule à l'intérieur de foudres (cuve en chêne). En décembre 2009, le vin caractéristique de l'assemblage des deux cépages (CS/Merlot, 70/30 (vol/vol)) (Tableau 29), est mis en barrique où l'élevage est réalisé pendant 15 mois. La cinétique d'extraction des ellagitanins du bois ainsi que les prélèvements pour effectuer les analyses organoleptiques se déroulent à 6, 12 et 15 mois et les bouteilles sont conservées à 16°C avant analyse.

Analyses des paramètres classiques							
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC		
CS/M- T0	4,54 ± 0,25	4,73 ± 0,62	222,63 ± 52,65	74,95 ± 1,51	1,22		
Vin	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)				
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)		
CS- T0	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64		
Analyses des tannins moléculaires							
Vin	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatechine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
CS/M- T0	5,43 ± 0,11	20,17 ± 0,49	18,45 ± 0,29	3,22 ± 0,23	10,10 ± 0,24	10,79 ± 0,11	2,90 ± 0,25
Analyses des anthocyanes moléculaires							
Vin	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)	
CS/M- T0	9,52 ± 0,30	2,21 ± 0,03	7,98 ± 0,15	2,87 ± 0,23	42,67 ± 2,08	65,25 ± 2,74	
Vin	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)	
CS/M- T0	2,09 ± 0,02	18,17 ± 0,60	1,95 ± 0,01	6,67 ± 0,10	20,26 ± 0,61	8,62 ± 0,11	
Analyses FOSS							
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH	
CS/M- T0	245,00 ± 23,08	0,99 ± 0,01	15,05 ± 0,08	1,32 ± 0,04	2,63 ± 0,08	3,55 ± 0,01	
Vin	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)	
CS/M- T0	3,16 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,76 ± 0,01	18,25 ± 0,43	61,25 ± 0,43	

Tableau 29 : Caractéristiques de l'assemblage CS/Merlot (70/30) à la mise en barrique

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-O-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-O-glucoside, Pt-3-glc ; pétonidine-3-O-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-O-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-O-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-O-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-O-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 2.2. Mise en place de l'essai

Les bois, *Quercus robur* et *Quercus petraea* provenant de France sont laissés à l'air libre pendant 18 mois sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France) où leur maturation se déroule. Puis, ces derniers sont classés en fonction de leur grain et de leur indice polyphénolique (Oakscan®) [109]. Trois groupes de douelles (950 X 22 mm (longueur X épaisseurs)) et d'échantillons de bois (écourtures), tous en « grain fin » (largeur de cernes moyenne de 2 mm avec 5 % maximum de grains moyens) sont constitués. Le premier groupe de douelles (IP 12) a un IP moyen de  $11,93 \pm 7,86$  alors que les deux autres groupes IP 30 et IP 40 ont respectivement des IP moyens de  $30,36 \pm 5,75$  et de  $40,31 \pm 5,79$  (Figure 75). Pour finir, les douelles d'un même groupe sont assemblées en barriques (2 barriques par groupe d'IP) de contenance de 225 L. Leur chauffe correspond à la « chauffe vin rouge moyenne + » (temps de chauffe très long (80 min) avec une température basse et un bousinage avec couvercle ( $T^{\circ}\text{max}$  lors du bousinage =  $280^{\circ}\text{C}$ )) du tonnelier.

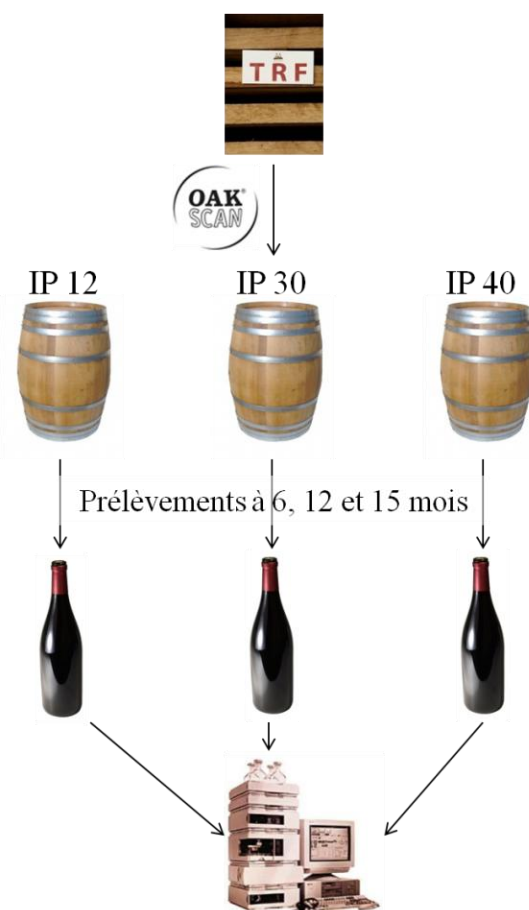


Figure 75 : Schéma du plan d'essai sur l'assemblage CS/Merlot (70/30)

## 2.3. Analyse des ellagitanins des bois de chêne utilisés

### 2.3.1. Dosage des ellagitanins par hydrolyse acide

Comme pour le plan d'essai précédent, la significativité des classes proche infrarouge est confirmée grâce au dosage des ellagitanins des bois par hydrolyse acide. Pour cela, un nombre minimum de 9 échantillons de bois pour chaque classe sont analysés. Ici encore, une forte disparité des teneurs en ellagitanins est observée (Figure 76). Les concentrations vont de  $6,90 \pm 0,15$  à  $29,14 \pm 0,12$  mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec. Les différentes classes IP 12, IP 30 et IP 40 ont respectivement des concentrations comprises entre  $6,90 \pm 0,15$  et  $13,02 \pm 0,20$  ;  $13,51 \pm 0,25$  et  $20,29 \pm 0,32$  et  $19,40 \pm 0,37$  et  $29,14 \pm 0,12$  mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec (Figure 76). Ces niveaux d'ellagitanins conduisent à une bonne corrélation avec la classification NIRS des bois ( $p < 0,02\%$ ). Le chevauchement des extrémités des classes est toujours observé. Cela est principalement dû à l'utilisation de méthodes de dosage indirectes. Néanmoins, ces chevauchements apparaissent dans des proportions moindres que dans le chapitre 4, 1.3.1., grâce au choix aléatoire des échantillons de bois analysés.

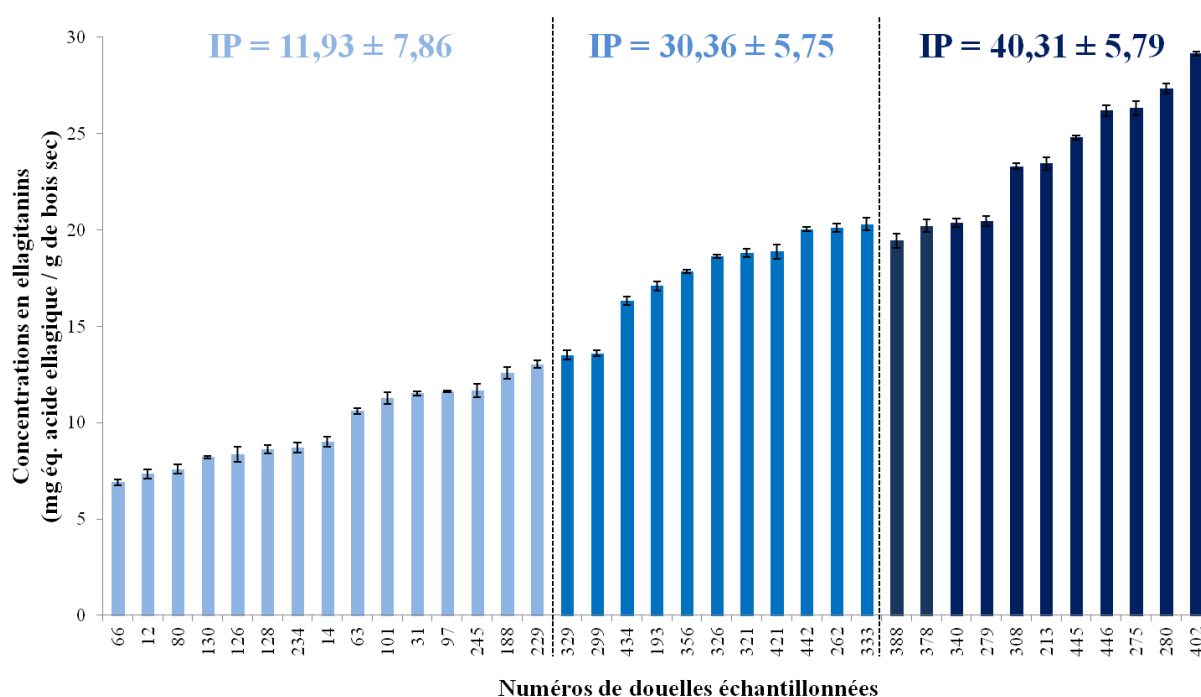


Figure 76 : Corrélation entre les concentrations en ellagitanins des bois analysés par hydrolyse acide et l'IP des classes déterminé par NIRS

### 2.3.2. Dosage des ellagitanins moléculaires

Parallèlement au dosage par hydrolyse acide, le dosage de chaque ellagitanin du bois est effectué. Ainsi, des concentrations allant de  $17,69 \pm 2,23$  à  $61,19 \pm 0,77$  mg d'équivalent vescalagine/g de bois sec sont observées (Figure 77). Ces concentrations sont corrélées avec les classes Oakscan® ( $p < 0,02\%$ ) puisque celles-ci vont de  $17,69 \pm 2,23$  à  $31,34 \pm 2,07$  ;  $26,97 \pm 2,46$  à  $50,69 \pm 1,64$  et  $42,88 \pm 0,16$  à  $50,69 \pm 1,64$  mg d'équivalent vescalagine/g de bois sec respectivement pour les classes IP 12, IP 30 et IP 40 (Figure 77).

A nouveau, dans ces échantillons de bois, castalagine et vescalagine sont les deux ellagitanins les plus représentés avec respectivement des pourcentages moyens de  $32,19 \pm 1,71\%$  et de  $24,80 \pm 0,46\%$  mais qui s'étalent sur une échelle comprise entre 24,25 et 43,98% pour la castalagine et 12,40 et 34,83% pour la vescalagine (Figure 77). Les autres ellagitanins représentent en moyenne  $4,71 \pm 0,46\%$  pour la roburine A (de 2,44 à 7,82%),  $6,59 \pm 0,62\%$  pour la roburine B (de 2,80 à 10,69%),  $5,07 \pm 0,48\%$  pour la roburine C (de 2,22 à 9,20%),  $10,93 \pm 0,36$  pour la grandinine (de 7,85 à 15,81%),  $3,38 \pm 0,16\%$  pour la roburine D (de 1,45 à 9,61%) et  $12,34 \pm 0,82\%$  pour la roburine E (de 8,70 à 17,85%) (Figure 77). Néanmoins, cette variation de la composition en ellagitanins n'a pas d'influence sur la classification NIRS de la teneur globale en ellagitanins.

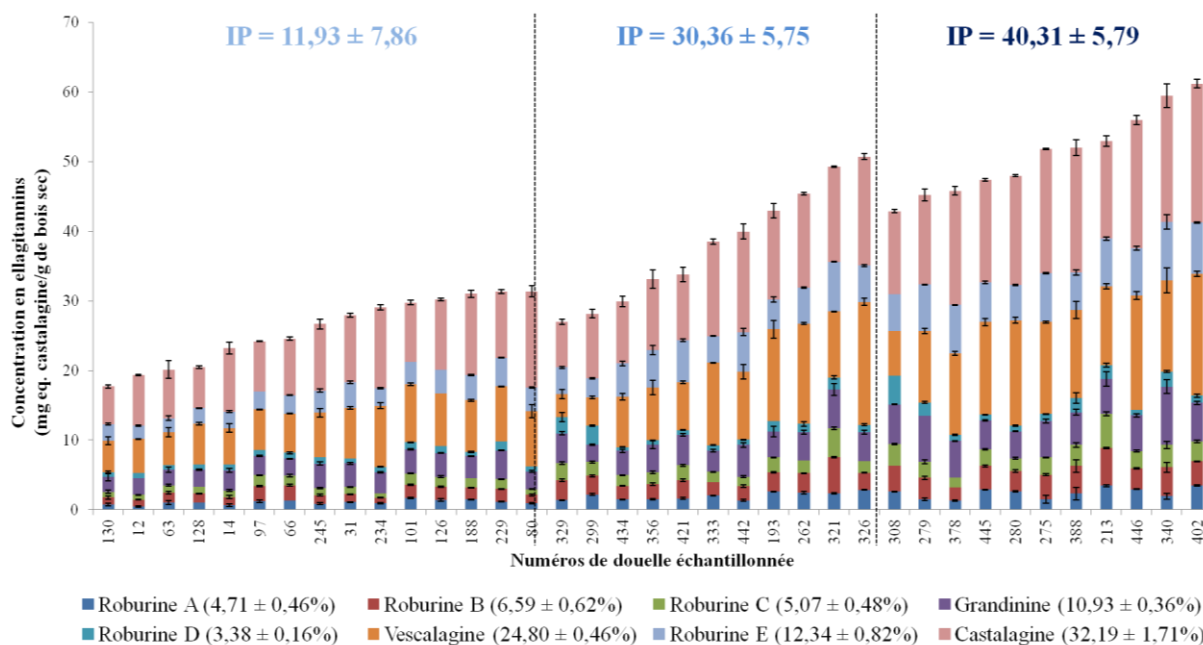


Figure 77 : Corrélation entre la composition en ellagitanins des bois utilisés et les classes d'IP

Ces nouvelles analyses confirment les résultats obtenus lors du plan d'essai avec un vin issu à 100% de CS (cf chapitre 4, 1.3.) et que la classification NIRS des bois destinés à la

fabrication des barriques est plus pertinente que celle de l'espèce [132], de l'origine ou du grain (cf chapitre 1, 1.5.) [1, 155].

## 2.4. Analyse des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide

Après avoir confirmé la répétabilité de la classification NIRS des bois entre les plans d'essai, les cinétiques d'extraction des ellagitanins sont analysées à 6, 12 et 15 mois afin d'étayer les résultats des dégustations présentées par la suite.

Les concentrations d'ellagitanins dans le vin relevées par hydrolyse acide montrent des différences significatives à 6, 12 et 15 mois entre la modalité IP 12 et les deux autres ( $p < 0,6\%$ ). Ainsi, dès 6 mois d'élevage, le vin élevé dans la barrique avec le plus fort IP (IP 40) possède la concentration en tanins ellagiques la plus forte ( $3,74 \pm 0,12$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) alors qu'à contrario, le même vin élevé dans la barrique la plus pauvre en polyphénols du bois (IP 12) se révèle également être le moins riche en ellagitanins ( $1,75 \pm 0,05$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) (Figure 78). Cette classification est maintenue jusqu'au 15<sup>ème</sup> mois. Par contre, les concentrations mesurées dans le vin des modalités IP 30 et IP 40 ne sont pas significativement différentes ( $p > 26\%$ ). Or la classification des bois des groupes IP 30 et IP 40 s'était révélée significativement distinctes (cf chapitre 4, 2.3.). Le fait de ne plus retrouver un écart entre les deux modalités dans le vin peut être due à de légères différences de chauffes combinées à la non classification des fonds des barriques utilisées.

Dans les trois modalités, une diminution des concentrations en ellagitanins du vin est observée depuis le 6<sup>ème</sup> mois ce qui est corrélé à IP constant avec les cinétiques observées dans le plan d'essai précédent (cf chapitre 4, 1.4.1.). En effet, l'IP 39, proche de l'IP 40 de ce plan d'essai conduisait à une concentration en ellagitanins qui diminuait à partir du 8<sup>ème</sup> mois (Figure 72). Néanmoins, la concentration en ellagitanins de la modalité IP 39, après 6 mois d'élevage, était plus élevée ( $4,61 \pm 0,01$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) que celle observée à 6 mois avec l'IP 40 ( $3,74 \pm 0,12$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge). Cette différence pourrait s'expliquer par les modalités de vinification et d'élevage différentes entre ces deux vins. Ainsi, le premier vin analysé, 100% CS, avait un IPT de  $52,71 \pm 0,51$  (Tableau 25) alors que le vin de notre deuxième essai possède un IPT de  $61,25 \pm 0,43$  (Tableau 29). Or comme observé précédemment (cf chapitre 3, 2.3.), à un IP de bois constant, plus l'IPT d'un vin est élevé, plus la concentration en ellagitanins du vin est basse ce qui est certainement dû à une transformation de ces derniers avec certaines molécules du vin (tanins, anthocyanes...). Ensuite, la chauffe influe également beaucoup sur la teneur en



ellagitanins des bois, ceux-ci étant thermodégradables [108]. Il faut donc noter que la chauffe utilisée ici, « chauffe vin rouge moyenne + » et plus longue (80 min) que celle utilisée précédemment (chauffe vin rouge moyenne) (75 min). De plus, les barriques de ce plan d'essai possèdent une épaisseur de douelle (22 mm) moins importante que celles du plan d'essai précédent (27 mm) ce qui peut favoriser le passage de l'oxygène au vin et donc une oxydation accrue des ellagitanins (cf chapitre 1, 1.6.2.). Ces différences pourraient expliquer les évolutions des concentrations en ellagitanins différentes entre ces deux vins.

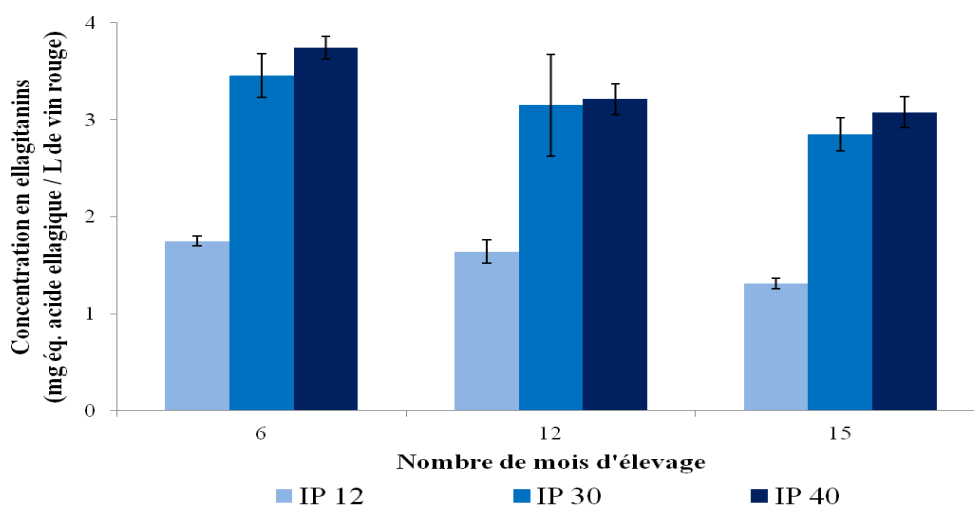


Figure 78 : Concentrations en ellagitanins de l'assemblage CS/Merlot (70/30) à 6, 12 et 15 mois d'élevage

Une fois les concentrations en ellagitanins des vins connues, leurs impacts organoleptiques sur les vins sont testés en réalisant des profils sensoriels grâce à des dégustations.

## 2.5. Analyses sensorielles

A 6, 12 et 15 mois, les arômes, le goût et les sensations du vin rouge sont testés dans une salle de dégustations munie de boxes individuels par 20 juges entraînés (cf chapitre 2, 3.12.1.) sur des descripteurs tel que les intensités du fruité et du boisé, le vanillé, l'épicé, le fumé/grillé au nez mais aussi le fruité, l'amertume, l'astringence et l'amplitude en bouche. Après 6 mois d'élevage (Figure 79 A), la modalité IP 40 est jugée comme significativement plus vanillé ( $p < 5\%$ ) et amère ( $p < 5\%$ ) que les autres modalités. L'amertume en bouche pourrait être directement liée à l'augmentation de la concentration en ellagitanins du vin. Les différences d'amertume de l'IP 40 restent significatives après 12 mois d'élevage (Figure 79 B) mais pas après 15 mois (Figure 79 C). Après 15 mois, les juges ne sont donc plus capables de différencier les 3 modalités sur ce critère. La transformation moléculaire des ellagitanins avec d'autres composés du vin pourrait jouer un rôle sur

l'amertume de ces derniers en diminuant sa perception. A 15 mois d'élevage (Figure 79 C), les modalités IP 30 et 40 sont jugées comme plus boisée au nez ( $p < 1\%$ ) et plus fumé/grillé ( $p < 5\%$ ). Ces deux caractéristiques sont liées à la solubilisation de composés du bois. Or, il semblerait que les concentrations du guaiacol, du methyl-4-guaiacol et du syringol soient liées à l'IP des bois (cf chapitre 3, 2.4.). Donc, leurs concentrations dans le vin, élevé au contact des deux modalités dont les IPs sont les plus forts, doivent être plus élevées.

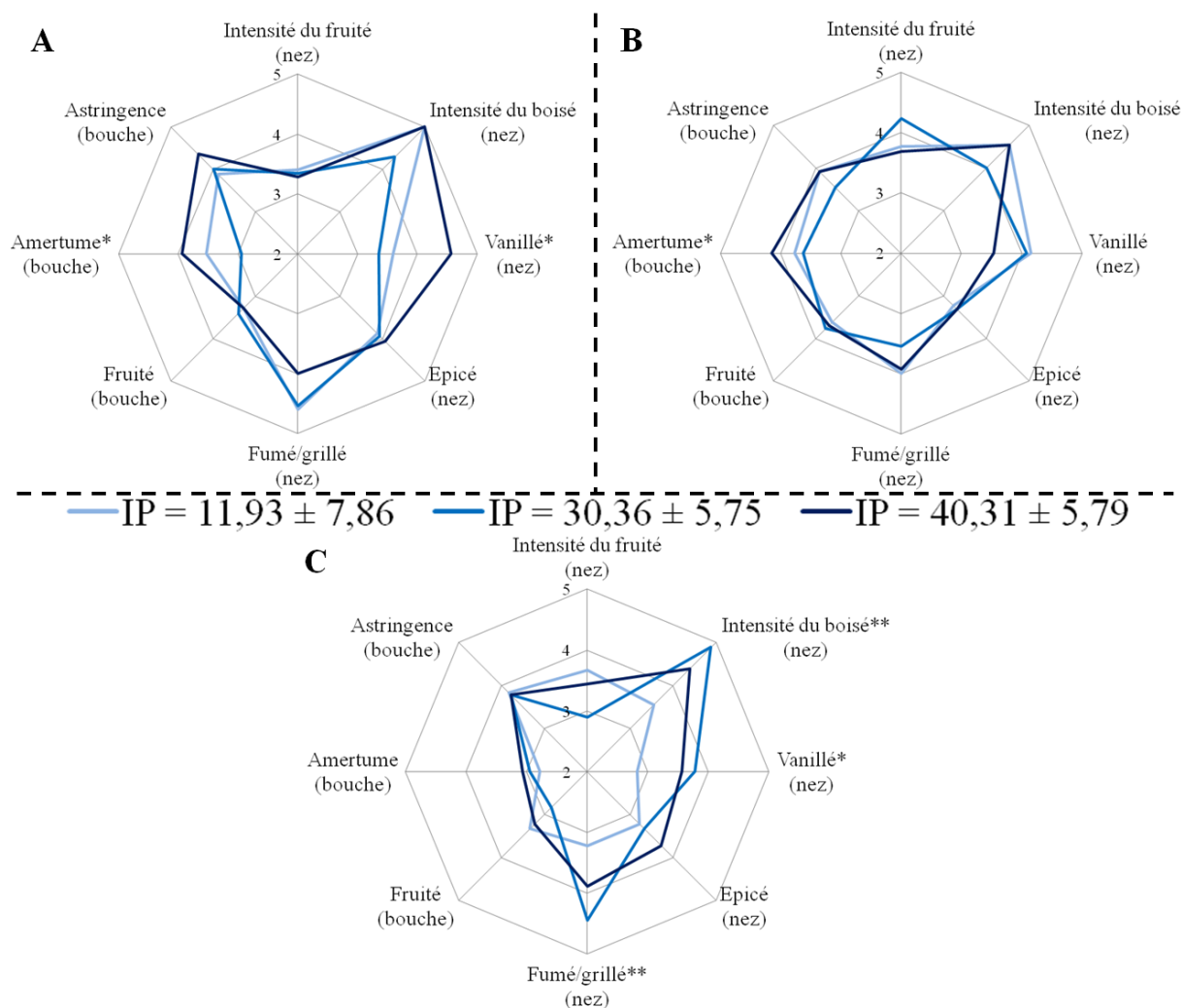


Figure 79 : Impacts organoleptiques sur l'assemblage CS/Merlot élevé dans des fûts classés grâce à Oakscan® **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage, **C** : après 15 mois d'élevage

\* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$

## 2.6. Conclusion

La viabilité de la méthode de classification des bois par proche infrarouge est à nouveau confirmée sur un deuxième lot de bois. Nous pouvons donc considérer que celle-ci, quelque soit la provenance et le lot des bois, sera pertinente pour tous les autres plans d'essais mis en place. Néanmoins, la méthode de fabrication de la barrique (chauffe et non classification des fonds des barriques) lisse les concentrations d'ellagitanins retrouvées dans

le vin ce qui rend les classes d'IP des barriques différentes de seulement 10 points comme non significative. En effet, les concentrations en ellagitanins du vin élevé dans ces dernières ne peut être différencié. Ensuite, les impacts de l'IPT du vin, du traitement thermique des bois et de l'épaisseur des douelles jouent également un rôle sur la concentration en ellagitanins du vin en diminuant celle-ci. Or, en dessous d'un certain seuil situé vers 3,5 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge pour les paramètres de ce plan d'essai (type de vin, IPT, chauffe des barriques...), les juges discriminent le vin sur seulement quelques paramètres comme l'amertume pour les premiers mois d'élevage et l'intensité du boisé à travers le vanillé et le fumé/grillé après 15 mois d'élevage. Dans ce cas, les ellagitanins n'auraient qu'un impact limité sur les propriétés du vin lorsque leur concentration est supérieure à  $3,21 \pm 0,16$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge.

### **3. Etude sur un vin de Merlot**

#### **3.1. Caractéristiques du vin**

En septembre 2009, les raisins 100% Merlot sont récoltés manuellement sur des parcelles de vignes situées dans l'appellation Montagne Saint-Emilion (France). Une fois la fermentation alcoolique terminée, le vin est entonné dans les barriques neuves de l'essai (type bordelaise) pour y subir la fermentation malolactique. A la fin de celle-ci, en février 2010, le vin est sulfité à 4 g/hL et les caractéristiques chimiques du vin sont analysées à 6 mois d'élevage (Tableau 30). Les concentrations en ellagitanins et en composés aromatiques du vin sont ensuite analysées après 6, 12 et 18 mois d'élevage. Enfin, les caractéristiques organoleptiques du vin à 6 et 18 mois sont testées grâce à des dégustations.

Analyses des paramètres classiques							
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC	SO <sub>2</sub> total (mg/L)	
M- 6 mois	2,83 ± 0,06	5,79 ± 0,11	127,61 ± 8,27	85,39 ± 0,74	1,22	n.d	
Vin	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)			SO <sub>2</sub> libre (mg/L)	
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)		
M- 6 mois	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64	14	
Analyses des tannins moléculaires							
Vin	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatechine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
M- 6 mois	8,87 ± 0,47	28,99 ± 3,74	37,05 ± 1,74	11,62 ± 1,18	13,96 ± 1,53	18,41 ± 1,36	3,94 ± 0,65
Analyses des anthocyanes moléculaires							
Vin	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)	
M- 6 mois	3,25 ± 0,28	2,22 ± 0,01	5,13 ± 0,19	2,29 ± 0,09	7,37 ± 0,87	20,23 ± 1,44	
Vin	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)	
M- 6 mois	1,89 ± 0,05	5,37 ± 0,09	1,96 ± 0,03	4,93 ± 0,04	7,27 ± 0,05	6,89 ± 0,06	
Analyses FOSS							
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH	
M- 6 mois	117,83 ± 13,4	0,99 ± 0,01	15,14 ± 0,06	1,02 ± 0,04	2,87 ± 0,05	3,71 ± 0,01	
Vin	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)	
M- 6 mois	2,95 ± 0,02	0,46 ± 0,01	0,22 ± 0,03	1,53 ± 0,04	15,67 ± 0,47	68,51 ± 0,51	

Tableau 30 : Caractéristiques du vin 100% Merlot des différentes barriques de l'essai après 6 mois d'élevage

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, n.d ; non déterminé, Df-3-glc ; delphinidine-3-*O*-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-*O*-glucoside, Pt-3-glc ; pétunidine-3-*O*-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-*O*-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-*O*-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-*O*-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-*O*-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-*O*-(*p*-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

### 3.2. Mise en place de l'essai

Pendant 18 mois, les bois issus de chêne français du type *Quercus robur* et *Quercus petraea* sont laissés à l'air libre sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France) dans le but de ramener leur hygrométrie à des niveaux inférieurs à 15%. Ensuite, au cours du processus de fabrication de la barrique, ces derniers sont classés en fonction de leur grain et de leur indice polyphénolique (Oakscan®) [109]. Trois classes de barriques (2 barriques/classe) sont constituées en fonction de leur indice polyphénolique. Tous ces fûts ont une contenance de 225 L (barrique de type bordelaise), sont de type « grain fin » (largeur de cernes moyenne de 2 mm avec 5 % maximum de grains moyens) et leur chauffe correspond à la chauffe « Révélation » (temps de chauffe très court (60 min) avec une température modérée et sans bousinage (T° max lors du bousinage = 230°C)) du tonnelier. Le premier groupe de fût (IP 11) a un IP moyen déterminé par Oakscan® de 11 alors que les deux autres groupes IP 26 et IP 41 ont respectivement des IP moyens de 26 et de 41 (Figure 80).

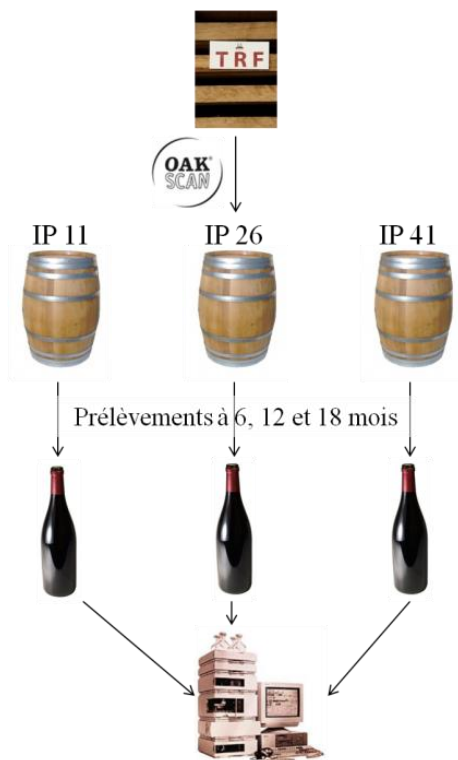


Figure 80 : Schéma du plan d'essai sur le vin 100% Merlot

### 3.3. Analyse des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide

Les concentrations en ellagitanins des vins en fonction de l'IP de la barrique sont analysées à 6, 12 et 18 mois (Figure 81). Sur ce type de vin, 100% Merlot, les concentrations en tanins ellagiques des vins sont corrélées avec l'IP des barriques ( $p < 11\%$  à 6 mois et  $p < 0,8\%$  à 12 et 18 mois). En effet, dès 6 mois d'élevage, plus l'IP de la barrique est croissant, plus les concentrations en ellagitanins dans le vin sont importantes, soit respectivement de  $3,91 \pm 0,04$  ;  $5,42 \pm 0,17$  et  $6,88 \pm 0,75$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge pour le vin élevé dans les barriques IP 11, IP 26 et IP 41 (Figure 81) soit une augmentation de 76% des concentrations en ellagitanins entre les IP 11 et 41. La cinétique d'évolution en ellagitanins dans ce vin est décalée dans le temps car entre 6 et 12 mois, les analyses montrent que les concentrations en ellagitanins augmentent alors que celles-ci diminuaient au bout du 6<sup>ème</sup> mois pour un IP 26 et au bout du 8<sup>ème</sup> mois pour un IP 39 (Figure 72) (cf chapitre 4, 1.4.1.).

Néanmoins, les concentrations en ellagitanins retrouvées dans le vin 100% Merlot sont beaucoup plus importantes (Figure 81) que celles qui étaient retrouvées dans le vin 100% CS (Figure 72). En effet, après 12 mois d'élevage, le vin élevé dans la barrique IP 11 possède une teneur en ellagitanins de  $11,21 \pm 0,34$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 81) proche de celle retrouvée dans le vin 100% CS,  $11,56 \pm 0,31$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge, élevé dans une barrique avec un IP de 70 (Figure 72). Cette

grande différence de concentration en relation avec un IP constant des bois peut s'expliquer principalement par la différence de chauffe qu'il existe entre ces deux plans d'essais les ellagitanins étant sensibles à la chaleur [108]. En effet, la chauffe (« révélation ») menée sur les barriques de ce plan d'essai est plus courte (60 min) et moins forte ( $T^{\circ}$  max inférieure à  $230^{\circ}\text{C}$ ) (cf chapitre 4, 3.2.) que celle effectuée sur les barriques dans lesquelles le 100% CS est élevé (chauffe « vin rouge moyenne »; temps de chauffe de 75 min avec une  $T^{\circ}$  max =  $280^{\circ}\text{C}$ ) (cf chapitre 4, 1.2). Néanmoins, dans les deux cas, IP 11 avec une chauffe « révélation » et IP 70 avec une chauffe « vin rouge moyenne », on obtient des maximums de concentrations en ellagitanins, respectivement de  $11,21 \pm 0,34$  et  $11,56 \pm 0,31$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge, proches et se situant dans les deux cas vers le 12<sup>ème</sup> mois d'élevage. La cinétique d'évolution des ellagitanins dans le vin dépend donc de leur teneur dans les bois après chauffe et peut donc être modulée en fonction de l'IP des bois mais aussi en fonction de la chauffe appliquée à ceux-ci.

Ensuite, le vin élevé dans le fût IP 41 voit la concentration en ellagitanins augmenter jusqu'au 12<sup>ème</sup> mois puis se stabiliser jusqu'au 18<sup>ème</sup> mois contrairement au vin élevé dans les deux autres modalités qui voit la concentration en ellagitanins diminuer (Figure 81). Cette stabilité peut être la conséquence d'un maximum d'extraction en ellagitanins situé entre le 12<sup>ème</sup> et le 18<sup>ème</sup> mois ou alors d'un équilibre entre l'extraction des ellagitanins du bois par le vin et leur vitesse de réaction avec les molécules du vin durant ces mois. Dans les deux cas, cette cinétique traduit un niveau d'ellagitanins dans le bois après les chauffes aromatiques bien supérieur à ce qui avait été observé jusque là.

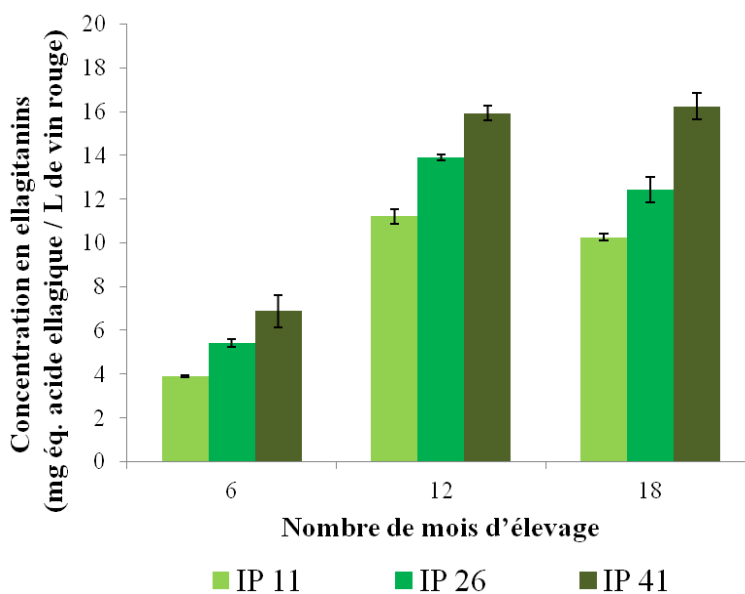


Figure 81 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% Merlot à 6, 12 et 18 mois d'élevage

En accord avec les effets déjà observés des teneurs en ellagitanins dans le vin, les conséquences organoleptiques de ces derniers en bouche devraient être significatives lors des dégustations.

### **3.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin**

Après 6 mois d'élevage, l'alcool furfurylique et le 5-méthylfurfural sont les deux seuls composés dont les concentrations croient avec l'IP des bois (Tableau 31). A l'inverse, les concentrations de la *cis*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone dans les vins décroissent lorsque l'IP des bois augmente. Néanmoins, les concentrations de ces composés restent toujours inférieures à leurs seuils de détection et seuls la *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone et le guaiacol voient leurs concentrations dépasser ce seuil mais sans corrélation avec la classification Oakscan® (Tableau 31).

A 18 mois d'élevage, les concentrations de plusieurs composés sont inversement corrélées avec l'IP des bois. Ainsi, la somme des concentrations dans le vin des molécules jouant un rôle sur le fumé/grillé (guaiacol, syringol, furfural, alcool furfurylique et 5-méthylfurfural) décroît lorsque l'IP des bois des barriques augmentent (Tableau 31). Ainsi les vins élevés au contact de bois riches en polyphénols devrait être jugés comme moins fumé/grillé ce qui est à l'inverse des conséquences de la classification NIRS observées jusqu'ici. Néanmoins, les concentrations de ces molécules sont bien souvent inférieures à leurs seuils de perceptions. A contrario, les molécules jouant sur les perceptions du vanillé et du coco (vanilline, *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone et *cis*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone) possèdent des concentrations supérieures à leurs seuils de perceptions avec une tendance à la diminution lorsque l'IP des bois augmente (Tableau 31). Ainsi, après 12 mois d'élevage, les vins élevés au contact des bois de fort IP devraient être jugés avec une intensité du vanillé moins importante ce qui est surprenant, l'inverse étant observé jusqu'à présent (Tableau 31).

6 mois d'élevage				
Composés aromatiques du bois (µg / L)	IP 11	IP 26	IP 41	Seuils de perceptions (µg / L de vin rouge)
Guaiacol	0	11	0	10
4-methylguaiacol	0	0	0	20
Eugénol	22	36	0	500
Syringol	17	37	30	1000
Furfural	3487	3812	3437	20000
Alcool furfurylique	<b>331</b>	<b>381</b>	<b>383</b>	45000
5-méthylfurfural	<b>406</b>	<b>557</b>	<b>567</b>	45000
Vanilline	204	221	203	250
trans β-méthyl-γ-octalactone	97	93	95	74
cis β-méthyl-γ-octalactone	161	121	84	320
18 mois d'élevage				
Composés aromatiques du bois (µg / L)	IP 11	IP 26	IP 41	Seuils de perceptions (µg / L de vin rouge)
Guaiacol	19	19	17	10
4-methylguaiacol	0	0	0	20
Eugénol	51	29	19	500
Syringol	44	40	35	1000
Furfural	885	1497	944	20000
Alcool furfurylique	3941	2493	2035	45000
5-méthylfurfural	123	335	233	45000
Vanilline	305	286	247	250
trans β-méthyl-γ-octalactone	514	392	420	74
cis β-méthyl-γ-octalactone	927	542	378	320

Tableau 31 : Concentrations en arômes du vin rouge 100% Merlot après 6 et 18 mois d'élevage

### 3.5. Analyses sensorielles

Après 6 mois d'élevage, seule l'amertume est significativement perçue comme plus importante pour le vin élevé dans la barrique IP 41 par rapport à celui élevé dans la barrique IP 11 (Figure 82 A). Le vin au contact de bois ayant un IP de 26 est perçu avec une amertume intermédiaire. L'astringence n'est pas différente entre les vins car à 6 mois, leurs concentrations en ellagitanins restent assez proches, entre  $3,91 \pm 0,04$  et  $6,88 \pm 0,75$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge.

A 18 mois d'élevage, comme attendu en raison du dosage chimique des tanins ellagiques dans le vin, les impacts des ellagitanins sur l'astringence et l'amertume sont fortement ressenties. En effet, le vin provenant de la barrique IP 41 est perçu comme plus astringent ( $p < 0,1\%$ ) et plus amer ( $p < 5\%$ ) que les deux autres vins. L'amplitude ( $p < 10\%$ ) et la persistance ( $p < 5\%$ ) sont également perçues comme plus importantes dans le vin issu des barriques IP 26 et IP 41 (Figure 82 B). La transformation des ellagitanins avec d'autres composés du vin (tanins, anthocyanes...) pourrait expliquer ces impacts (cf chapitre 1, 3.5.)



mais des études concernant la genèse de ces composés (flavano-ellagitanins...) restent à entreprendre.

Au niveau des arômes du vin à 6 mois, ces derniers ne sont que peu impactés par la classification des bois par Oakscan® (Tableau 31). Cela explique les faibles impacts de la classification NIRS sur le bouquet aromatique des vins observés ici. Une chauffe légère des barriques permet donc de moins impacter le vin sur sa composante aromatique boisée tout en augmentant la structuration de celui-ci par un apport tannique supplémentaire. A 18 mois d'élevage, les concentrations de plusieurs arômes du bois sont corrélées de manière inversement proportionnelle à l'IP des bois et avec des concentrations supérieures à leurs seuils de perception notamment pour le vanillé (Tableau 31). Néanmoins pour ces descripteurs aromatiques, le vin élevé au contact des différentes barriques n'est pas discriminé pour ces arômes (Figure 82).

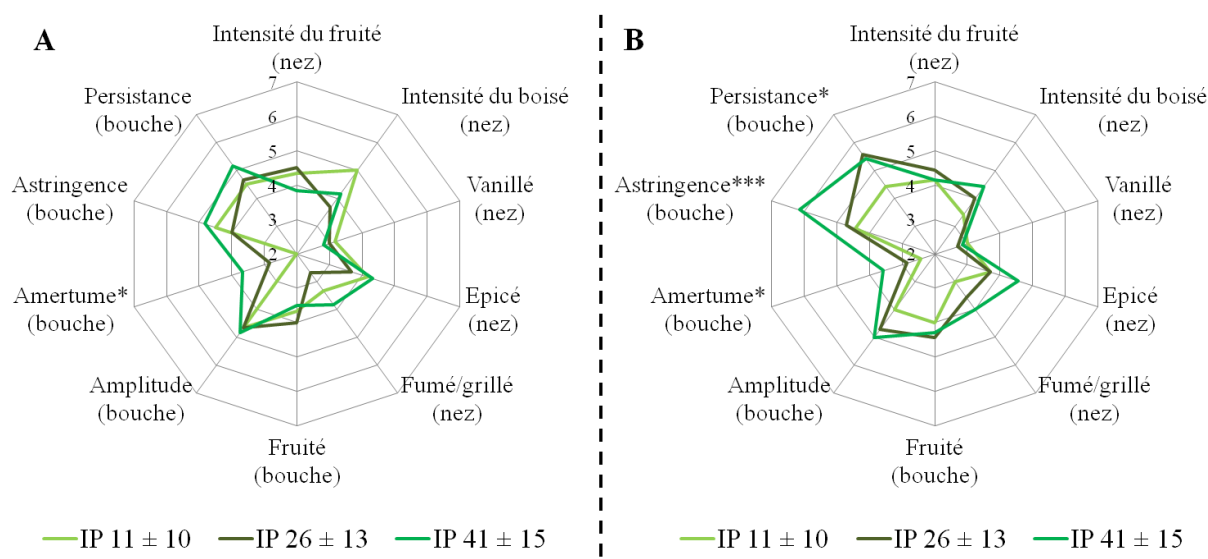


Figure 82 : Impacts organoleptiques de l'IP des fûts sur le vin 100% Merlot élevé dans des fûts classés grâce à Oakscan® : **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 18 mois d'élevage  
\* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$

### 3.6. Conclusion

A travers cet essai, la corrélation ( $p < 11\%$  à 6 mois et  $p < 0,8\%$  à 12 et 18 mois) entre les concentrations en ellagitanins du vin et la classification des bois par NIRS est une nouvelle fois confirmée. Ensuite, l'importance de l'intensité de la chauffe aromatique sur la teneur des bois en ellagitanins est démontrée puisqu'à IP constant de la barrique, l'apport tannique du fût subissant une chauffe légère est bien supérieur (ici, d'un facteur 4) au fût chauffé plus fortement. Cet apport tannique plus important décale dans le temps la cinétique d'évolution des ellagitanins en retardant le maximum de concentration de ces derniers dans le vin.

L'application d'une chauffe légère permet également de moduler les apports organoleptiques de la barrique. En effet, l'apport supérieur de tanins du bois va influencer les perceptions en bouche du vin en augmentant entre autres l'astringence et l'amertume tout en limitant l'apport du caractère boisé au nez ce qui est certainement dû à une dégradation moins importante de la lignine, précurseur de nombreux composés aux caractères boisés.

Le contrôle de l'IP des bois combiné à la maîtrise de la chauffe va donc permettre de moduler l'apport de qualités organoleptiques désirées au vin. Par exemple, un fort apport tannique du bois, apportant une structuration au vin, pourra être combiné à une augmentation du boisé limitée en nez.

## **4. Etude sur un vin de Sauvignon**

En parallèle de l'étude des effets potentiels de la classification des bois de chêne sur la qualité chimique et sensorielle de différents vins rouges, nous avons également étendu le sujet à des essais sur un vin blanc de sauvignon.

### **4.1. Caractéristiques du vin**

Les raisins 100% Sauvignon sont récoltés en 2009 dans la zone d'appellation Sainte Foy-Bordeaux (France). A la fin des fermentations alcoolique et malolactique, le vin est entonné dans les barriques neuves de l'essai. Les caractéristiques chimiques « classiques » (Tableau 32) ainsi que la concentration en ellagitanins et les propriétés organoleptiques du vin sont analysées après 6 mois d'élevage.

Analyses des paramètres classiques							
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)		Proanthocyanidines (g/L)			Do 420	
S- 6 mois	0,21 ± 0,04		0,18 ± 0,01			0,02	
Analyses des tannins moléculaires							
Vin	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg éq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatéchine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
S- 6 mois	1,18 ± 0,07	0,89 ± 0,08	2,61 ± 0,05	1,18 ± 0,02	0,89 ± 0,02	2,21 ± 0,07	1,06 ± 0,04
Analyses FOSS							
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)		
S- 6 mois	848,33 ± 54,71	0,99 ± 0,01	12,39 ± 0,01	1,17 ± 0,05	0,33 ± 0,05		
Vin	pH	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)		
S- 6 mois	3,46 ± 0,01	3,42 ± 0,01	0,22 ± 0,01	2,66 ± 0,01	0,19 ± 0,01		

Tableau 32 : Caractéristiques du vin 100% sauvignon blanc utilisé dans les différentes barriques de l'essai à 6 mois d'élevage (Do 420 ; absorbance à 420 nm, TAV ; titre alcoométrique volumique)

## 4.2. Mise en place de l'essai

Les merrains issus de *Quercus robur* et *Quercus petraea* provenant de France sont laissés 18 mois à l'air libre sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France). Les bois sont ensuite sélectionnés en fonction de leur grain et de leur indice polyphénolique [109] pour aboutir à l'assemblage de 3 types de fûts. Les 3 groupes obtenus de fûts de type bordelais (225 L) sont ; deux barriques d'IP 11 et deux autres d'IP 35 constituées d'un mélange de grain fin et de grain moyen (largeur de cernes moyenne de 3 mm) et deux barriques d'IP 51 constituées de grain fin (Figure 83). Tous ces fûts subissent la même chauffe, soit la chauffe « vin blanc moyenne » (temps de chauffe long (60 min) avec une température basse et sans bousinage ( $T^{\circ}$  max lors du bousinage =  $230^{\circ}\text{C}$ )) de la tonnellerie RADOUX.

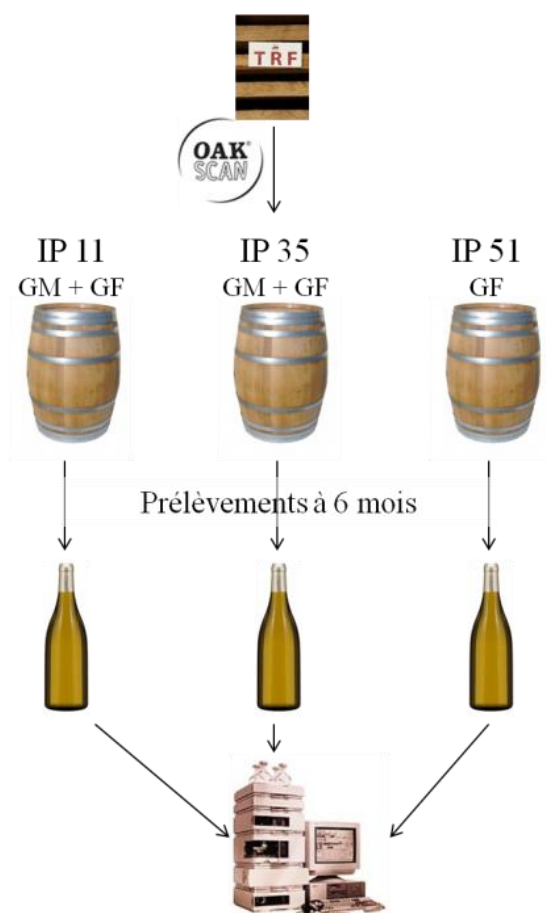


Figure 83 : Schéma du plan d'essai sur le vin 100% Sauvignon Blanc  
GM : Grain Moyen (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm)

### 4.3. Analyse des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide

Après 6 mois d'élevage du vin blanc dans les barriques classifiées par NIRS, les concentrations en ellagitanins sont corrélées à l'IP des barriques ( $p < 2\%$ ) (Figure 84). Plus celui-ci augmente, plus les teneurs dans le vin blanc sont grandes. Ainsi, après 6 mois d'élevage, le vin élevé dans la barrique IP 11 a une concentration en ellagitanins de  $6,38 \pm 0,74$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin alors que le vin issu des deux autres groupes de barriques, soit IP 35 et IP 51 ont des teneurs respectives de  $10,56 \pm 0,95$  et  $13,22 \pm 0,83$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin (Figure 84). Donc, une augmentation de 107% des concentrations en ellagitanins dans le vin blanc est observée entre les IP 11 et 51. Une forte augmentation de la concentration en ellagitanins est donc observée dans ces premiers mois d'élevage ce qui est corrélée avec le type de chauffe utilisant une température basse sans bousinage et donc dégradant peu les ellagitanins du bois [108]. De plus, la faible teneur en polyphénols du vin blanc (et notamment de tanins en comparaison au vin rouge) contribuent à l'obtention de fortes concentrations en ellagitanins en diminuant leurs réactions avec les phénols du vin blanc.

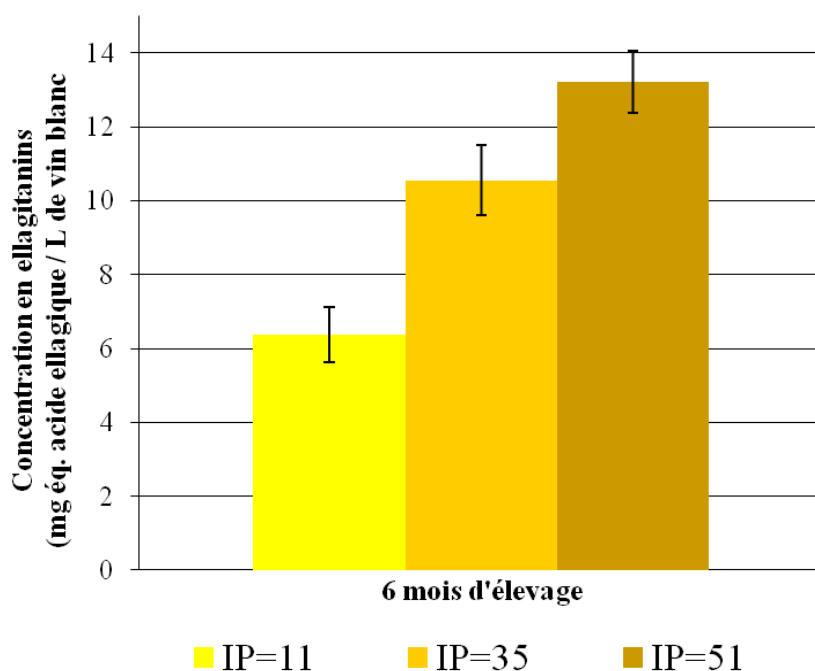


Figure 84 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% sauvignon blanc à 6 mois d'élevage

#### 4.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin

L'analyse des composés aromatiques du vin montre une corrélation entre l'IP des fûts et les concentrations dans le vin blanc de plusieurs composés (syringol, furfural, alcool furfurylique) impliqués dans la perception du fumé/grillé (Tableau 33). Une différence dans la composition du bois au niveau de la lignine, précurseur de ces composés, serait donc concomitante à sa teneur en polyphénols. Néanmoins, les concentrations de ces molécules restent inférieures à leurs seuils de perceptions dans le vin blanc bien qu'une possible synergie pourrait conduire à une perception lors des dégustations.

La concentration en vanilline suit également les IP des barriques (Tableau 33). Or, cette dernière est aussi issue de la dégradation de la lignine. Par contre, ces teneurs sont plus faibles que son seuil de perception mais un effet synergique avec les whisky-lactones (descripteurs de la noix de coco) reste possible. En effet, seules les concentrations de la *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone sont élevées dans le vin pour les barriques du groupe IP 11 et IP 35 et sont supérieures à son seuil de perception. Ces teneurs pourraient donc avoir un impact sur les arômes de noix de coco ou de vanille du vin.

6 mois d'élevage				
Composés aromatiques du bois ( $\mu\text{g/L}$ )	IP 11	IP 35	IP 51	Seuils de perceptions ( $\mu\text{g/L}$ de vin blanc)
Guaiacol	0	11	0	95
4-methylguaiacol	0	0	11	65
Eugénol	37	46	26	100
Syringol	<b>32</b>	<b>36</b>	<b>38</b>	1500
Furfural	<b>8363</b>	<b>10333</b>	<b>11099</b>	65000
Alcool furfurylique	<b>5001</b>	<b>6266</b>	<b>6797</b>	35000
5-méthylfurfural	2058	1922	1396	52000
Vanilline	<b>172</b>	<b>201</b>	<b>218</b>	400
<i>trans</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	105	160	69	92
<i>cis</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	172	213	111	460

Tableau 33 : Concentrations des composés aromatiques boisés du vin blanc

#### 4.5. Analyses sensorielles

La composition du vin blanc étant assez différente de celle du vin rouge, les apports organoleptiques des ellagitanins à travers la classification NIRS des bois sont différents de ceux obtenus dans le cas du vin rouge. Nous avons dégusté le vin blanc issu des différents fûts afin d'étudier les profils obtenus (Figure 85).

Après 6 mois d'élevage, plusieurs descripteurs à la fois au nez et en bouche sont impactés. Au nez, le vin élevé dans la barrique IP 51 est jugé comme plus boisé ( $p < 5\%$ ) et

plus fumé/grillé ( $p < 1\%$ ) que les IP 11 et 35 (Figure 85). En effet, entre les IP 11 et 51, le boisé et le fumé/grillé sont respectivement augmentés de 36 et 131%. Cette différence est corrélée avec les teneurs en molécules aromatiques dont le descripteur est le fumé ou le grillé (syringol, furfural, alcool furfurylique) dont l'augmentation est en moyenne de 34% entre les IP 11 et 51.

En bouche, l'astringence est fortement impactée ( $p < 1\%$ ) et augmentée (+ 89%) dans le vin blanc de la modalité IP 51 (Figure 85) par rapport aux deux autres modalités (IP 11 et 35). Cela est dû aux teneurs croissantes en ellagitanins du vin blanc (+ 107% entre les IP 11 et 51) en accord avec les paragraphes précédents [26-28]. L'amplitude est également impactée ( $p < 1\%$ ) par la classification NIRS avec une augmentation progressive de cette dernière avec l'IP des bois (+ 59% entre les IP 11 et 51) (Figure 85). Une légère tendance vers une augmentation de l'amertume avec l'IP des bois est aussi observée tandis que le fruité en nez et en bouche diminueraient pour l'IP 51 ce qui pourrait s'expliquer par un masquage par les arômes du boisé [387].

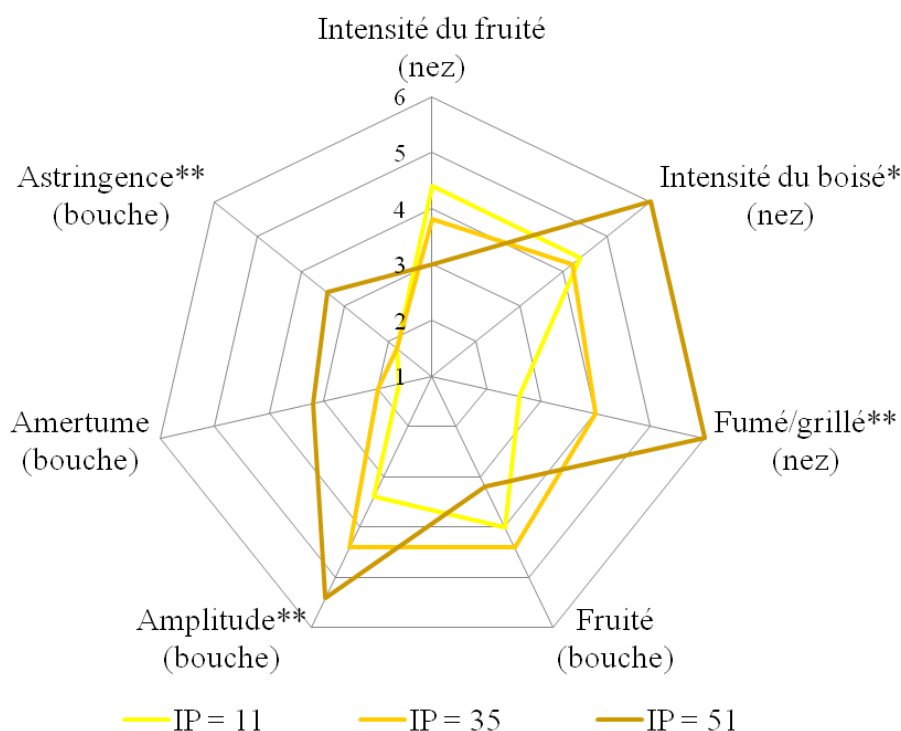


Figure 85 : Impacts organoleptiques de l'IP des fûts sur le vin 100% sauvignon blanc élevé au contact de bois classifiés par NIRS après 6 mois d'élevage

\* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$

## 4.6. Conclusion

Cet essai a permis d'observer les impacts de la classification NIRS des bois sur un vin blanc. Des conséquences similaires que ce soit sur la composition chimique ou sur les caractéristiques organoleptiques du vin blanc par rapport au vin rouge sont observées. Ainsi, la classification NIRS des barriques et la concentration en ellagitanins du vin blanc sont corrélées ( $p < 2\%$ ). D'autres composés aromatiques (syringol, furfural, alcool furfurylique), comme ceux impliqués dans le fumé/grillé, possèdent des teneurs dans le vin blanc corrélées à l'IP des barriques. Lors de la dégustation du vin, ces impacts moléculaires sont retrouvés avec un vin issu des barriques IP 51 jugé comme plus boisé, fumé/grillé, astringent et ample. L'amertume et le fruité ne sont pas impactés significativement mais une tendance à augmenter pour le premier et à diminuer pour le second (notamment dans le cas de l'IP le plus élevé (IP 51)) semble se dégager.

## 5. Conclusion générale

La classification par l'analyse NIRS se corrèle avec les teneurs en ellagitanins des bois déterminées par hydrolyse acide ou par analyse des ellagitanins moléculaires par HPLC-UV. Néanmoins, lorsque la moyenne de l'IP des bois de deux classes est inférieure à 6 points d'IP, le chevauchement des extrémités de classe devient trop important et les classes se retrouvent ne plus être significativement différentes (cf chapitre 4, 1.3.1.). Par ailleurs, la grande hétérogénéité de composition en ellagitanins des bois ne modifie pas le classement Oakscan®. Les analyses étant issues d'un échantillonnage sur des bois provenant de différentes forêts et de différents lots, le classement Oakscan® est valide et plus pertinent que les critères de sélections traditionnels (cf chapitre 1, 1.5.) quelque soit la provenance des bois.

La composition chimique des vins est impactée de manière significative ( $p < 5\%$ ) lorsque ceux-ci sont élevés dans les barriques dont les bois sont classifiés par NIRS. En effet, une bonne corrélation entre la concentration en ellagitanins des vins et l'IP des fûts est retrouvée quelque soit l'origine du vin ou du bois, ou les modalités de fabrication de la barrique (séchage des bois, chauffes...). Plus l'IP des bois est élevé, plus le vin aura une concentration en ellagitanins importante. Néanmoins, un certain lissage des différences de concentrations en polyphénols retrouvées dans les bois apparait dans le vin. Ainsi, le même vin élevé dans deux barriques ayant un IP différent de 10 point n'est pas toujours significativement différent (cf chapitre 4, 2.4.). En effet, l'IPT du vin, le traitement thermique des bois (chauffe aromatique...), les méthodes de fabrication des fûts (non classification

NIRS des bois des fonds...) ou l'épaisseur des douelles peuvent diminuer les écarts de concentration en ellagitanin dans le vin.

La cinétique d'évolution des ellagitanins dans le vin est également modifiée en fonction du classement des bois. Plus l'IP de ceux-ci sera grand, plus le maximum de concentration en ellagitanins dans le vin sera important et arrivera plus tardivement au cours de l'élevage. La durée du maximum et le profil de décroissance des concentrations en tanins ellagiques sont également modulées par l'IP des bois. Elles seront plus longues et plus fortes lorsque l'IP des bois est élevé. La chauffe est un autre critère mis en jeu dans la modulation de la cinétique d'évolution des concentrations en ellagitanins. Une chauffe courte et à basse température dégrade moins d'ellagitanins ce qui a les mêmes conséquences qu'une augmentation de l'IP des bois en modifiant le maximum de concentration en ellagitanins.

Ces différences chimiques entraînent des modifications pour les paramètres organoleptiques des vins. Ainsi, l'amertume et l'astringence qui sont les deux paramètres touchés le plus directement par la concentration en ellagitanins [26-28], augmentent généralement avec l'IP des bois des barriques (Tableau 34). En bouche, la classification NIRS impacte également l'amplitude du vin blanc (Tableau 34). La perception du fruité en bouche diminue significativement lorsqu'un fort apport en polyphénols du bois se produit en début d'élevage dans un vin 100% CS (Tableau 34). La même tendance est observée pour les autres vins.

La perception olfactive des vins après élevage avec le bois de chêne est fortement impactée par la classification des bois par Oakscan® avec en général, une augmentation de l'intensité du boisé surtout à travers le fumé/grillé en fonction de la chauffe (Tableau 34). Néanmoins, l'analyse chimique des arômes du vin n'a pas permis la mise en évidence de l'impact joué notamment par les aldéhydes furanique, la vanilline ou les whisky-lactones sur les descripteurs boisés car d'autres composés aromatiques du vin devraient être pris en compte (esters, alcools supérieurs...) et l'effet de synergie des composés aromatiques reste à étudier en présence de tanins du bois.

L'apport de la classification NIRS sur les qualités organoleptiques des vins reste donc difficile à évaluer. Celui-ci dépend aussi fortement d'autres paramètres comme la chauffe des barriques, l'épaisseur des douelles, le processus de vinification mais aussi le grain du bois et l'IPT du vin. C'est la raison pour laquelle nous présentons dans les chapitres suivant une étude sur les rôles joués par le grain puis par l'IPT des vins.



Appellations	Cépages/ Assemblages	Millésime	IP barriques	IPT vin	Nombres de mois d'élevage	Chauffe (Temps/T°)	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Vanillé (nez)	Epicé (nez)	Fumé/Grillé (nez)	Fruité (bouche)	Amplitude (bouche)	Astringence (bouche)	Amertume (bouche)
Pessac - Léognan	CS	2009	21 ; 39 ; 50 ; 70	52 ; 71	6	75/280	-20%	+17%			+34%	-22%		+30%	+30%
Pessac - Léognan	CS	2009	21 ; 39 ; 50 ; 70	52 ; 71	12	75/280	-24%	+35%		+20%	+22%	-25%			+14%
Pessac - Léognan	CS	2009	21 ; 39 ; 50 ; 70	52 ; 71	18	75/280	-18%	+21%				-19%			
Pessac - Léognan	CS	2009	21 ; 39 ; 50 ; 70	52 ; 71	24	75/280	-32%	+21%	-62%	+44%	+100%			+29%	+113%
Paulliac	CS / Merlot (70 / 30)	2009	12 ; 30 ; 40	61 ; 25	6	80//280			+27%						+12%
Paulliac	CS / Merlot (70 / 30)	2009	12 ; 30 ; 40	61 ; 25	12	80//280	-2%		-15%						+10%
Paulliac	CS / Merlot (70 / 30)	2009	12 ; 30 ; 40	61 ; 25	15	80//280	-6%	+23%	+26%		+21%				
Montagne St-Emilion	Merlot	2009	11 ; 26 ; 41	68 ; 51	6	60/230									+84%
Montagne St-Emilion	Merlot	2009	11 ; 26 ; 41	68 ; 51	18	60/230		+29%		+23%			+25%	+39%	+47%
Saint Foy- Bordeaux	Sauvignon blanc	2009	11 ; 35 ; 51	8	6	70/260		+36%			+131%		+59%	+89%	

impact non significatif, p < 10%, p < 5%, p < 1%, p < 0,1%

Tableau 34 : Résumé des impacts de la classification des bois de chêne sur les caractéristiques organoleptiques des vins  
les % correspondent aux différences des moyennes des notes des dégustations entre les barriques ayant l'IP le plus faible et celle ayant l'IP le plus haut



**Chapitre 5 : Impacts des ellagitanins et du grain du bois de chêne sur la cinétique d'extraction et les propriétés organoleptiques du vin lors d'un élevage en barriques neuves**

# 1. Etude sur un vin de Merlot

## 1.1. Caractéristiques du vin

Les grappes de raisins de Merlot ont été récoltées en 2009 dans l'appellation Saint-Emilion et, après un éraflage et un foulage, sont mises en cuve pour y subir les fermentations alcoolique et malolactique. En novembre, une fois celles-ci terminées, le vin est entonné dans les barriques neuves classifiées par Oakscan® pour y subir un élevage de 12 mois. La composition chimique et les caractéristiques organoleptiques du vin sont ensuite analysées à 6 (Tableau 35) et 12 mois.

Analyses des paramètres classiques							
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC		
M- 6 mois	2,22 ± 0,2	5,3 ± 0,25	152,91 ± 33,98	88,78 ± 1,13	1,22		
Vin	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)				
M- 6 mois	1,39	0,71	Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)		
			36,21	51,15	12,64		
Analyses des tannins moléculaires							
Vin	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatechine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
M- 6 mois	5,1 ± 1,45	14,27 ± 4,6	19,66 ± 3,77	5,67 ± 1,27	8,65 ± 2,26	11,8 ± 2,34	2,38 ± 0,61
Analyses des anthocyanes moléculaires							
Vin	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)	
M- 6 mois	2,58 ± 0,08	2,18 ± 0,01	4,69 ± 0,11	1,94 ± 0,05	5,15 ± 0,4	16,54 ± 0,64	
Vin	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)	
M- 6 mois	1,87 ± 0,02	4,86 ± 0,13	1,87 ± 0,02	4,72 ± 0,07	6,73 ± 0,14	6,58 ± 0,09	
Analyses FOSS							
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH	
M- 6 mois	245 ± 23,08	0,99 ± 0	15,05 ± 0,08	1,33 ± 0,04	2,63 ± 0,08	3,55 ± 0,01	
Vin	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)	
M- 6 mois	3,16 ± 0,01	0,45 ± 0	0,11 ± 0,02	0,76 ± 0,01	18,25 ± 0,43	61,25 ± 0,43	

Tableau 35 : Caractéristiques du vin 100% Merlot des différentes barriques de l'essai IP/grain après 6 mois d'élevage

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-O-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-O-glucoside, Pt-3-glc ; pétonidine-3-O-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-O-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-O-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-O-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-O-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 1.2. Mise en place de l'essai

Les barriques sont fabriquées à partir de bois, *Quercus robur* et *Quercus petraea* (France), séchés pendant 18 mois à l'air libre sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France) puis classifiés en fonction de leur grain et de leur indice polyphénoliques [109]. Elles

subissent toutes la même chauffe, soit la chauffe « vin rouge évolution M » (temps de chauffe très long (75 min) avec bousinage ( $T^{\circ}$  max = 280°C) de la tonnellerie Radoux et ont une contenance de 225 L (type bordelaise). Trois types de barriques sont ainsi obtenues ; le groupe IP 41-GF (2 barriques avec un IP moyen des bois de  $41 \pm 15$  et un grain fin (largeur de cernes  $\approx 2$  mm)), le groupe IP 16-GXF (2 barriques avec un IP moyen des bois de  $16 \pm 14$  et un grain extra fin (largeur de cernes  $< 1,5$  mm)) et un groupe IP 41-GXF (2 barriques avec un IP moyen des bois de  $41 \pm 15$  et un grain extra fin (largeur de cernes  $< 1,5$  mm)) (Figure 86).

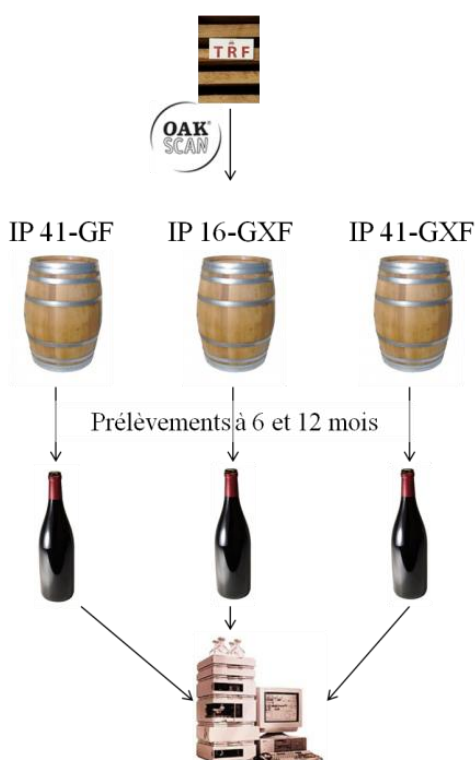


Figure 86 : Schéma du plan d'essai IP/grain sur le vin 100% Merlot  
 GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes  $< 1,5$  mm)

### 1.3. Analyses des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide

Dans le but d'étudier les effets du classement des bois notamment sur l'amertume et l'astringence, les concentrations en ellagitanins des vins dégustés à 6 et 12 mois sont préalablement analysées grâce au dosage de l'acide ellagique libéré après hydrolyse acide des ellagitanins. Comme dans les essais précédemment cités (cf chapitre 4), l'IP des bois influence la concentration en ellagitanins puisque le vin élevé dans la barrique IP 41-GXF possède une concentration toujours significativement supérieure ( $p < 0,2\%$ ) au même vin élevé dans le fût IP 16-GXF (Figure 87). En effet, à 6 et 12 mois, le vin IP 41-GXF conduit respectivement à des teneurs de  $8,80 \pm 0,62$  et  $10,04 \pm 0,53$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge alors que dans le même temps le vin IP 16-GXF possède des concentrations en

ellagitanins de  $6,57 \pm 0,27$  et  $8,20 \pm 0,40$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge soit des concentrations 50% et 28% plus importantes (Figure 87).

Les effets du grain sur les cinétiques d'extractions sont également observés, avec une extraction significativement plus rapide ( $p < 5\%$ ) à 6 mois des ellagitanins par le vin au contact du bois ayant un grain fin (modalité IP 41-GF). En effet, la teneur en tanins ellagiques à 6 mois de ce vin est de  $9,82 \pm 0,04$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge alors que le même vin au contact avec un grain extra fin (modalité IP 41-GXF) contient  $8,80 \pm 0,62$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 87) soit une concentration 12% plus importante pour le vin IP 41-GF. A 12 mois, cette différence n'est plus perceptible ( $p > 21\%$ ) puisqu'entre 6 et 12 mois d'élevage le vin de la barrique IP 41-GXF a continué à extraire plus d'ellagitanins (augmentation de 1,24 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) que le vin du fût IP 41-GF (+ 0,69 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) (Figure 87).

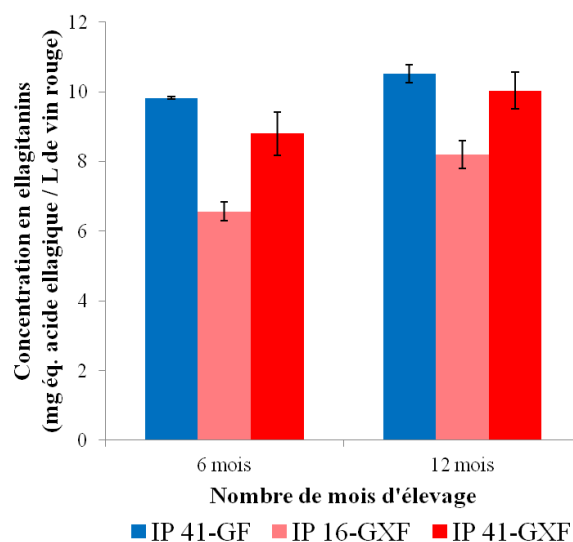


Figure 87 : Concentrations en ellagitanins du vin 100% Merlot à 6 et 12 mois d'élevage  
GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)

#### 1.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin

Après 6 mois d'élevage, la somme des arômes boisés recherchés montre une corrélation avec les IP du bois. En effet, le vin élevé dans la barrique IP41-GXF possède généralement plus d'arômes que son homologue élevé dans le fût IP 16-GXF (Tableau 36). Néanmoins, cet effet de l'IP des bois est inversé à 12 mois avec un vin issu de la barrique IP 16-GXF plus riche en arômes que les deux autres. Cette différence est majoritairement due à une concentration en alcool furfurylique (seuil de détection de 45 mg/L), plus de dix fois supérieure dans IP 16-GXF (Tableau 36). Après 6 et 12 mois d'élevage, le dosage des composés aromatiques montre que quelques molécules participant notamment aux caractères fumé/grillé et vanille/coco sont corrélées avec l'IP des bois. Il s'agit du furfural, du

5-méthylfurfural et de la *cis*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone (Tableau 36) à 6 mois auxquelles s'ajoutent le 4-méthylguaïacol et la *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone à 12 mois d'élevage. Parmi ces arômes qui proviennent de la thermo-dégradation de la lignine, seule la *cis*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone à 6 mois et la *cis* et *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone, le guaïacol et la vanilline à 12 mois possèdent des concentrations supérieures dans le vin par rapport à leurs seuils de perception (Tableau 36). Par conséquent, les vins élevés au contact des IP les plus forts devraient être jugés comme plus vanillés [373] et fumés/grillés notamment grâce à des effets de synergie des aldéhydes furaniques. La classification des bois pas NIRS en fonction de leurs teneurs en polyphénols semble donc être corrélée avec la composition de ces arômes boisés.

6 mois d'élevage				
Composés aromatiques du bois ( $\mu\text{g} / \text{L}$ )	IP41-GF	IP16-GXF	IP41-GXF	Seuils de perceptions ( $\mu\text{g} / \text{L}$ de vin rouge)
Guaïacol	0	11	0	10
4-méthylguaïacol	12	0	0	20
Eugénol	17	19	20	500
Syringol	41	45	44	1000
Furfural	<b>7366</b>	<b>5321</b>	<b>7196</b>	20000
Alcool furfurylique	33	36	30	45000
5-méthylfurfural	<b>1193</b>	<b>866</b>	<b>931</b>	45000
Vanilline	313	302	299	250
<i>trans</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	90	100	160	74
<i>cis</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	<b>184</b>	<b>144</b>	<b>169</b>	320
12 mois d'élevage				
Composés aromatiques du bois ( $\mu\text{g} / \text{L}$ )	IP41-GF	IP16-GXF	IP41-GXF	Seuils de perceptions ( $\mu\text{g} / \text{L}$ de vin rouge)
Guaïacol	25	29	29	10
4-méthylguaïacol	<b>18</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	20
Eugénol	45	58	58	500
Syringol	61	63	70	1000
Furfural	<b>5212</b>	<b>777</b>	<b>5502</b>	20000
Alcool furfurylique	915	9436	481	45000
5-méthylfurfural	<b>1350</b>	<b>410</b>	<b>1082</b>	45000
Vanilline	350	361	335	250
<i>trans</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	<b>276</b>	<b>248</b>	<b>484</b>	74
<i>cis</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	<b>632</b>	<b>425</b>	<b>533</b>	320

Tableau 36 : Concentrations en composés aromatiques du vin 100% Merlot après 6 et 12 mois d'élevage

GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)

## 1.5. Analyses sensorielles

A 6 mois d'élevage, l'impact de l'IP des bois est une nouvelle fois perçu, notamment avec un vin jugé plus boisé ( $p < 4\%$ ), plus amer ( $p < 1\%$ ) et plus persistant ( $p < 5\%$ ) lorsqu'il est élevé dans une barrique avec un IP 41 versus IP 16 (Figure 88 A). Au nez, l'augmentation de l'intensité du boisé est une nouvelle fois corrélée avec le dosage des composés aromatiques du type aldéhydes furaniques alors qu'en bouche, l'augmentation de l'astringence ( $p < 7\%$ ) et surtout de l'amertume ( $p < 1\%$ ) sont corrélées avec les concentrations en ellagitanins retrouvées dans le vin (Figure 88 A) [26-28]. Par contre le vanillé, contrairement à ce qui était attendu suite au dosage des composés aromatiques, n'est pas jugé différent entre les vins ( $p > 90\%$ ).

A 6 mois, l'amertume ( $p < 7\%$ ) et l'astringence ( $p < 10\%$ ) sont significativement impactées par le grain puisque celles-ci sont jugées, à IP constant, comme plus importantes dans le vin élevé au contact de grain extra fin (IP 41-GXF) qu'avec des grains fins (IP 41-GF) (Figure 88 A). De plus, une tendance à obtenir une augmentation du boisé et de l'épicé qui se corrèlerait avec la diminution du fruité au nez [387], est observée pour le vin élevé au contact du grain fin.

A 12 mois, les caractéristiques organoleptiques des vins, notamment celles des IP 41-GF et IP 41-GXF, se rapprochent comme le confirme les analyses des concentrations en ellagitanins par hydrolyse acide. Néanmoins, l'astringence ( $p < 0,6\%$ ) et l'amplitude ( $p < 3\%$ ) apparaissent comme significatives. En effet, le vin élevé dans la barrique IP 41-GXF est jugé plus astringent et plus ample que les deux autres vins qui ne sont pas discriminés alors que l'IP de leur barrique est différent. Il apparaît qu'une possible extraction plus rapide des tanins du bois avec les grains fins (IP 41-GF), observée lors des analyses chimiques (Figure 87), permettrait une intégration au vin de ces derniers plus longue et donc une diminution de leur astringence par transformation avec d'autres composés du vin [156, 166, 168, 379, 380]. C'est pourquoi, l'astringence est perçue de façon aussi intense que celle du vin élevé dans une barrique moins riche en polyphénols (IP 16) (Figure 88 B). Néanmoins, des études restent à mener pour confirmer cette hypothèse.



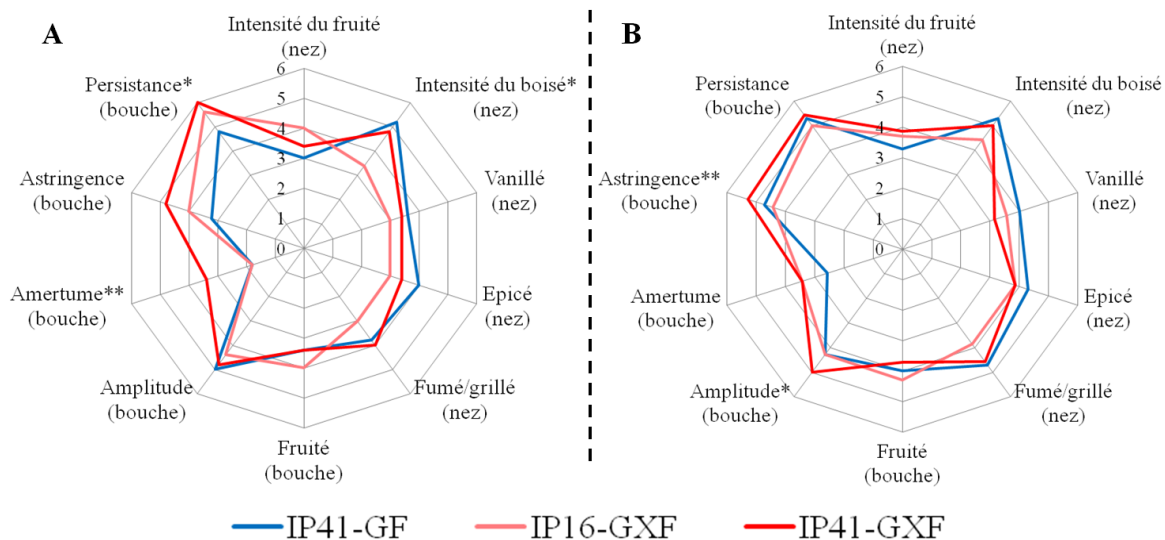


Figure 88 : Impacts organoleptiques des bois classés en fonction du grain (GF et GXF) et de leur IP (IP16 et IP 41), **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage  
 \* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$ , GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes  $< 1,5$  mm)

## 1.6. Conclusion

Ce plan d'essai confirme l'influence des IP des bois sur les concentrations en ellagitanins des vins. En effet, plus l'IP des bois de la barrique est élevé, plus les concentrations en ellagitanins retrouvées dans le vin sont fortes. Le grain a également montré son influence sur cette cinétique. Durant les premiers mois d'élevage, l'extraction des composés solubles du bois par le vin est plus rapide lorsque le grain de bois augmente. Puis, une fois la majorité des ellagitanins extraite des premières couches de bois, leur vitesse d'extraction diminue plus rapidement pour les grains plus gros que pour les autres. C'est pourquoi, aucune différence des concentrations en tanins du bois n'est observée après 12 mois d'élevage.

Le dosage des composés aromatiques montre que plusieurs d'entre eux, notamment ceux participant à l'expression du fumé/grillé et du vanillé, ont leur concentration corrélée avec l'IP des bois. La classification NIRS des ellagitanins entraînerait donc en parallèle une classification des bois selon d'autres critères tels que la composition de la lignine. L'impact du grain sur les concentrations en arôme du vin n'est pas clairement établi.

Lors des dégustations, les impacts des IP du bois se sont une nouvelle fois révélés à travers des descripteurs tels que l'intensité du boisé, l'astringence, l'amertume et la persistance. Les différences aromatiques des vins sont corrélées à un effet synergique des aldéhydes furaniques tandis que les différences de perceptions en bouche sont corrélées aux concentrations mesurées en ellagitanins. Le grain a également des impacts sur les caractéristiques du vin mais ceux-ci sont moins importants que ceux de l'IP du bois. A

6 mois, les bois ayant un grain extra fin apportent au vin significativement plus d'amertume mais moins de boisé et d'épicé alors qu'à 12 mois, ces grains apportent significativement plus d'astringence et d'amplitude. L'extraction des tanins du bois étant plus rapide avec les grains fins, leur intégration au vin serait donc meilleure ce qui diminuerait leur astringence par complexation avec des composés du vin [156, 166, 168, 379, 380].

## **2. Etude sur un assemblage CS/Merlot/Syrah**

### **2.1. Caractéristiques du vin**

En septembre 2009, les raisins de CS, Merlot et Syrah sont ramassés manuellement sur l'appellation Limoux, puis encuvés en cuve béton pour y subir les fermentations alcoolique et malolactique. En février 2010, une fois les fermentations terminées, le vin est entonné en barriques neuves pour un élevage de 12 mois. Les cinétiques d'extraction des composés du bois (ellagitanins et certains composés aromatiques boisés) et les qualités organoleptiques du vin sont appréciées grâce à des prélèvements à 6 (Tableau 37) et 12 mois. Les échantillons sont conservés à 16°C avant analyses.

Analyses des paramètres classiques							
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC		
CS/M/S- 6 mois	2,55 ± 0,06	4,35 ± 1,55	166,69 ± 15,39	82,51 ± 1,59	1,22		
Vin	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)				
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)		
CS/M/S- 6 mois	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64		
Analyses des tanins moléculaires							
Vin	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatéchine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
CS/M/S- 6 mois	4,95 ± 0,38	29,20 ± 3,75	32,36 ± 2,18	11,17 ± 0,95	15,76 ± 1,72	18,14 ± 1,57	4,40 ± 0,63
Analyses des anthocyanes moléculaires							
Vin	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)	
CS/M/S- 6 mois	3,53 ± 0,58	2,19 ± 0,01	5,08 ± 0,28	2,13 ± 0,15	8,68 ± 2,21	21,61 ± 3,22	
Vin	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)	
CS/M/S- 6 mois	1,94 ± 0,05	5,73 ± 0,53	1,92 ± 0,05	4,89 ± 0,18	7,67 ± 0,58	6,81 ± 0,22	
Analyses FOSS							
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH	
CS/M/S- 6 mois	344,29 ± 23,57	0,99 ± 0,01	14,16 ± 0,01	1,24 ± 0,07	2,01 ± 0,08	3,59 ± 0,01	
Vin	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)	
CS/M/S- 6 mois	3,42 ± 0,02	0,40 ± 0,01	0,06 ± 0,04	1,10 ± 0,01	19,43 ± 0,49	65,43 ± 0,49	

**Tableau 37 : Caractéristiques de l'assemblage CS/Merlot/Syrah après 6 mois d'élevage**

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-O-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-O-glucoside, Pt-3-glc ; pétonidine-3-O-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-O-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-O-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-O-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-O-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 2.2. Mise en place de l'essai

Les paramètres testés dans ce plan d'essai sont donc le potentiel polyphénolique et le grain des bois. Sept types de barriques (type « transport », 300 L) sont manufacturés en fonction du grain des bois (grain mi-fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), grain fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm) et grain extra fin (Largeur de cernes < 1,5 mm)) et de l'IP des bois (cf Tableau 38). Toutes ces barriques (au nombre de 2/groupe) (Figure 89), constituées de *Quercus robur* et *Quercus petraea* (France) séchés à l'air libre pendant 18 mois sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France), subissent la même chauffe soit la chauffe « vin rouge évolution M » (chauffe très longue (75 min) à température basse avec bousinage sans couvercle (T° max lors du bousinage = 280°C)) de l'entreprise de tonnellerie Radoux.

Type de barriques	Grain	Largeur de cernes	IP
IP 11-GMF	Mi-Fin	≈ 3 mm	11
IP 36-GMF	Mi-Fin	≈ 3 mm	36
IP 53-GMF	Mi-Fin	≈ 3 mm	53
IP 67-GMF	Mi-Fin	≈ 3 mm	67
IP 11-GF	Fin	≈ 2 mm	11
IP 36-GF	Fin	≈ 2 mm	36
IP 36-GXF	Extra-Fin	< 1,5 mm	36

Tableau 38 : Caractéristiques des groupes de barriques

GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)

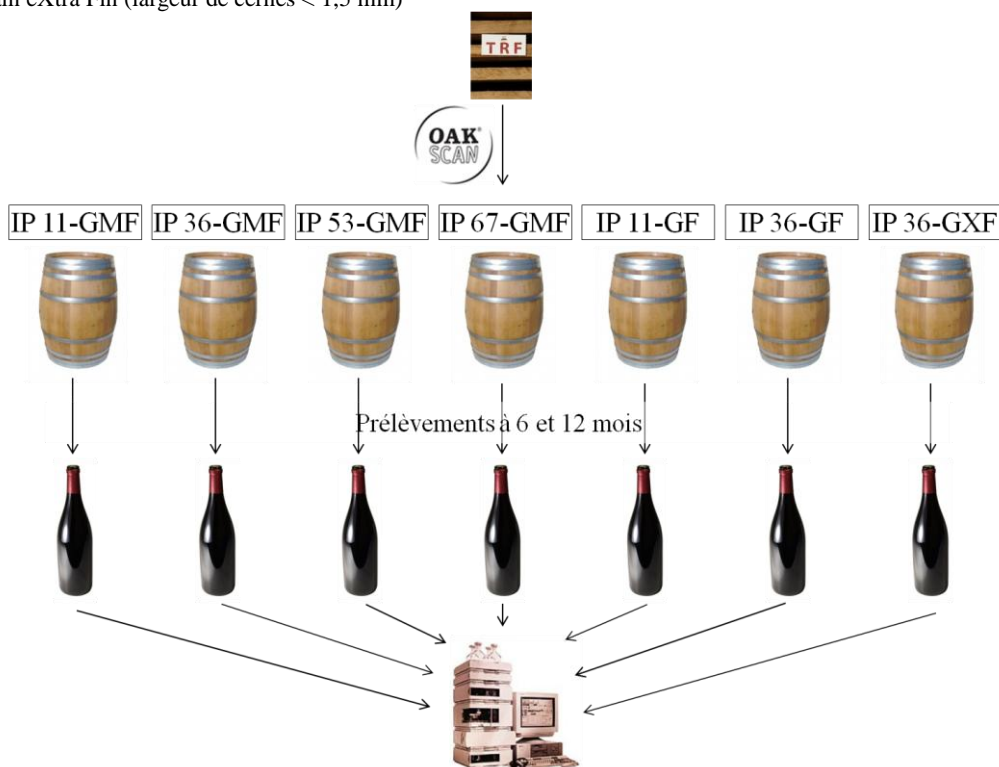


Figure 89 : Schéma du plan d'essai sur le vin d'assemblage CS/Merlot/Syrah

GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5mm)

### 2.3. Analyses des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide

Les concentrations en ellagitanins sont déterminées à 6 et 12 mois afin de mieux comprendre les caractéristiques organoleptiques en bouche des vins. Comme précédemment, l'IP des bois influence la concentration en ellagitanins du vin. Dans les vins élevés en barriques ayant le même grain (GMF) mais des IP différents, les teneurs en tanins du bois sont corrélées ( $p < 0,02\%$ ) avec l'IP des barriques après 6 mois d'élevage. Ainsi, le même vin élevé dans les barriques IP 11-GMF, IP 36-GMF, IP 53-GMF et IP 67-GMF possède, après 6 mois d'élevage, des concentrations en ellagitanins respectives de  $2,37 \pm 0,46$  ;  $4,91 \pm 0,18$  ;  $7,03 \pm 0,15$  et  $12,95 \pm 0,16$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 90). De fortes différences des concentrations en ellagitanins sont donc perçues avec des augmentations de celles-ci, à grain du bois constant, de + 446% entre l'IP 11 et IP 67, de + 164% entre les IP 36 et 67 et de + 84% entre les IP 53 et 67. Cette corrélation est maintenue jusqu'à 12 mois d'élevage ( $p < 2\%$ ) avec des différences de concentration en ellagitanins de + 1041% entre les IP 11 et 63, + 174% entre l'IP 36 et 67 et de + 60% entre les IP 53 et 67.

Le grain des bois joue également un rôle sur la cinétique d'extraction des ellagitanins. Ainsi, après 6 mois d'élevage, l'extraction des ellagitanins est plus importante lorsque le grain augmente ( $p < 0,4\%$ ). En effet, le vin élevé au contact de l'IP 36-GMF a une teneur en tanin du bois de  $4,91 \pm 0,18$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge alors que les deux autres vins (IP 36-GF et IP 36-GXF) ont des concentrations respectives de  $3,97 \pm 0,22$  et  $2,71 \pm 0,28$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge soit des concentrations en ellagitanins pour IP 36-GMF augmentées de 24% et 82% par rapport à IP 36-GF et IP 36-GXF (Figure 90). A 12 mois, ces écarts de concentrations ne sont plus significatifs ( $p > 42\%$ ). En effet, alors que la concentration de IP 36-GMF diminue, entre le 6<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> mois d'élevage, d'environ 0,30 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge, celle d'IP 36- GF ne diminue que d'environ 0,09 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge tandis que celle d'IP 36-GXF augmente de 0,83 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge. De même que dans l'essai précédent, la cinétique d'extraction des ellagitanins est décalée dans le temps en fonction du grain. Plus le grain est gros, plus le maximum de concentration en ellagitanins est obtenu rapidement en fonction de la classe d'IP. Le maximum en ellagitanins est d'autant plus important que l'IP est élevé. Plus le grain est fin, plus l'extraction des ellagitanins est lente avec des maximums de concentrations plus tardifs lors de l'élevage.

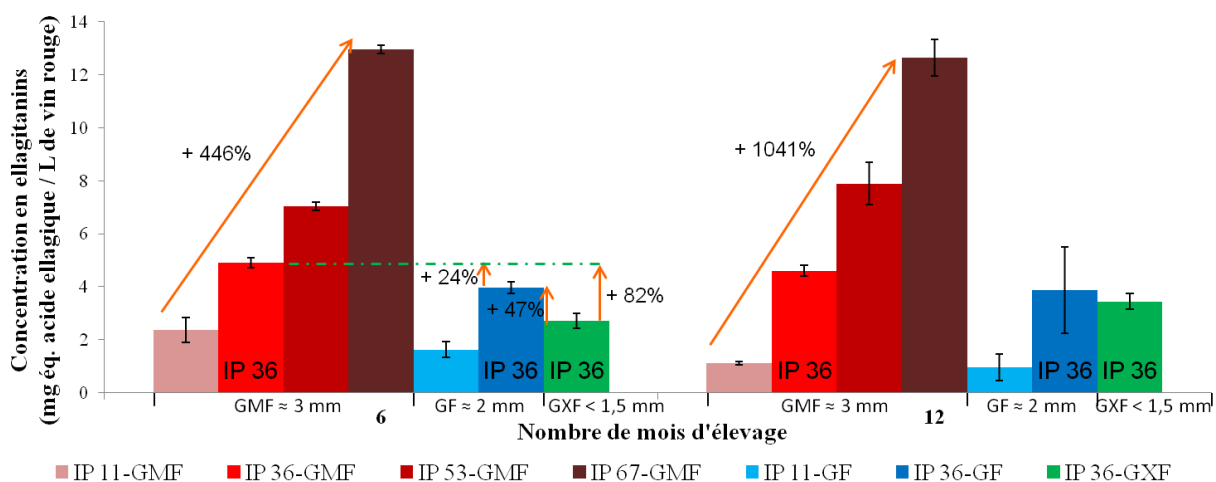


Figure 90 : Concentrations en ellagitanins du vin issu de l'assemblage CS/Merlot/Syrah après 6 et 12 mois d'élevage

GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GFX : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)

## 2.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin

Afin d'expliquer les conséquences de la classification des bois sur les arômes du vin lors des dégustations, certains composés aromatiques des bois sont dosés. A grain constant, seul le syringol et le furfural présentent des concentrations qui se corrélient avec l'IP des bois (Tableau 39) après 6 mois d'élevage. Néanmoins, la somme des composés impliqués avec ces derniers dans les descripteurs du boisé tel que le fumé/grillé (guaiacol, 4-méthylguaiacol, syringol, furfural, alcool furfurylique et 5-méthylfurfural) n'est pas corrélée avec l'IP des bois. En effet, à grain constant et après 6 mois d'élevage, le vin issu de la barrique IP 11-GMF est le vin le plus riche en arômes fumé/grillé suivi par le vin IP 67-GMF qui devient le vin le plus riche pour ces composés à 12 mois. Ensuite, contrairement à ce qui était attendu, le vin issu du fût IP 36-GXF est plus riche en arôme que les vins issus des barriques ayant le même IP après 6 mois d'élevage. Après 12 mois, les deux vins issus des barriques IP 36-GF et IP 36-GXF sont les vins les plus riches en arôme (Tableau 39). Or, plus les bois ont un grain fin, plus ils ont tendance à être pauvres en polyphénols (cf chapitre 1, 1.5.) et donc les vins au contact des bois GF et GFX auraient dû être les moins riches en arômes. D'autres paramètres doivent vraisemblablement intervenir dans le phénomène comme la porosité des bois ou les variations résultant de la méthode de chauffe [108].

Dans notre étude, les vins élevés pendant 12 mois possèdent des concentrations aromatiques totales 3 fois inférieures aux mêmes vins après 6 mois d'élevage. Cela s'explique, comme pour les ellagitanins, par une extraction des composés aromatiques rapide dans les premiers mois d'élevage puis une évolution de ceux-ci. Mais cette cinétique est

particulière à chaque arôme et pour chaque type de barrique. Malgré tout, certains arômes possèdent des concentrations dans le vin qui dépassent leur seuil de perception après 12 mois d'élevage. C'est le cas pour le guaiacol, la vanilline, la *trans* β-méthyl-γ-octalactone et la *cis* β-méthyl-γ-octalactone ce qui devrait apporter au vin des arômes boisés et vanillés (Tableau 39). Néanmoins, leur concentration n'apparaît pas liée au grain ou à l'IP des bois.

6 mois d'élevage								
Composés aromatiques du bois (µg / L)	IP 11-GMF	IP 36-GMF	IP 53-GMF	IP 67-GMF	IP 11-GF	IP 36-GF	IP 36-GXF	Seuils de perceptions (µg / L de vin rouge)
Guaiacol	11	11	12	12	12	13	16	10
4-methylguaiacol	0	0	0	0	0	0	0	20
Eugénol	28	12	26	26	32	33	32	500
Syringol	39	36	41	45	38	36	40	1000
Furfural	4269	5170	5504	6559	3856	4863	6169	20000
Alcool furfurylique	7296	187	1097	123	151	161	759	45000
5-méthylfurfural	1338	922	764	934	1089	816	1095	45000
Vanilline	281	241	234	282	250	219	250	250
<i>trans</i> β-méthyl-γ-octalactone	42	54	34	41	109	111	56	74
<i>cis</i> β-méthyl-γ-octalactone	77	105	66	65	205	171	176	320
12 mois d'élevage								
Composés aromatiques du bois (µg / L)	IP 11-GMF	IP 36-GMF	IP 53-GMF	IP 67-GMF	IP 11-GF	IP 36-GF	IP 36-GXF	Seuils de perceptions (µg / L de vin rouge)
Guaiacol	15	13	14	14	16	16	20	10
4-methylguaiacol	0	0	0	13	0	0	13	20
Eugénol	16	18	14	18	19	28	24	500
Syringol	49	43	43	51	45	51	60	1000
Furfural	274	201	195	236	219	248	235	20000
Alcool furfurylique	393	799	458	1267	1296	2745	2924	45000
5-méthylfurfural	101	547	426	693	580	287	313	45000
Vanilline	318	282	291	312	286	312	33	250
<i>trans</i> β-méthyl-γ-octalactone	101	118	90	129	280	288	139	74
<i>cis</i> β-méthyl-γ-octalactone	208	269	158	156	585	492	570	320

Tableau 39 : Dosage de composés aromatiques du bois dans le vin CS/Merlot/Syrah à 6 et 12 mois

GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)

## 2.5. Analyses sensorielles

Les analyses sensorielles confirment les impacts de la classification des bois par NIRS sur les paramètres organoleptiques du vin. Après 6 mois d'élevage, la concentration plus élevée en ellagitanins dans le vin IP 67-GMF augmente fortement son amertume ( $p < 0,6\%$ ) (Figure 91 A) [156, 166, 168, 379, 380]. Cette répercussion était attendue puisque l'analyse chimique des vins avait révélée un « décrochage » entre les concentrations en ellagitanins des vins particulièrement élevées dans les barriques à grain mi-fin (concentrations inférieures à 7,50 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) et le vin issu du fût IP 67-GMF (concentration de  $12,95 \pm 0,16$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge) (Figure 90). Pour ce vin (IPT = 65,43) combiné à ce type de vinification, l'augmentation du goût d'amertume est ressentie lorsque l'apport tannique du bois dépasse un seuil situé entre 7 et 12 mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge. Le fruité au nez ( $p < 10\%$ ) mais aussi en bouche (tendance) (Figure 91 A) sont également impactés de façon inversement

proportionnelle à l'IP des bois de la même façon que lors de la précédente expérimentation avec le vin 100% Merlot.

A 12 mois, l'amertume ( $p < 5\%$ ), mais aussi l'astringence ( $p < 8\%$ ), sont décrites comme plus importantes dans le vin IP 67-GMF (Figure 91 **B**). Ce dernier est également jugé comme plus boisé au nez ( $p < 3\%$ ) avec un fumé/grillé ( $p < 0,05\%$ ) bien plus important quand dans les autres vins (Figure 91 **B**). En effet, l'analyse des composés aromatiques du vin avait révélée des quantités de furfural et de syringol, molécules contribuant à l'arôme de grillé, plus importantes dans ce vin sans que leur seuil de détection ne soit atteint. D'autres molécules non dosées doivent donc contribuer à cette augmentation du fumé/grillé. Toujours pour ce vin, l'augmentation du boisé, probablement par un effet de masquage, contribue à la diminution du fruité au nez ( $p < 0,9\%$ ) mais aussi en bouche ( $p < 8\%$ ) (Figure 91 **B**) [387]. Une tendance ( $p < 14\%$ ) à obtenir une persistance plus importante lorsque l'IP des bois augmente est également observée (Figure 90 **B**). De plus fortes concentrations en molécules de type quercotriterpénosides [127], maltol [381], cyclotène ou autres pourraient intervenir dans ce phénomène.

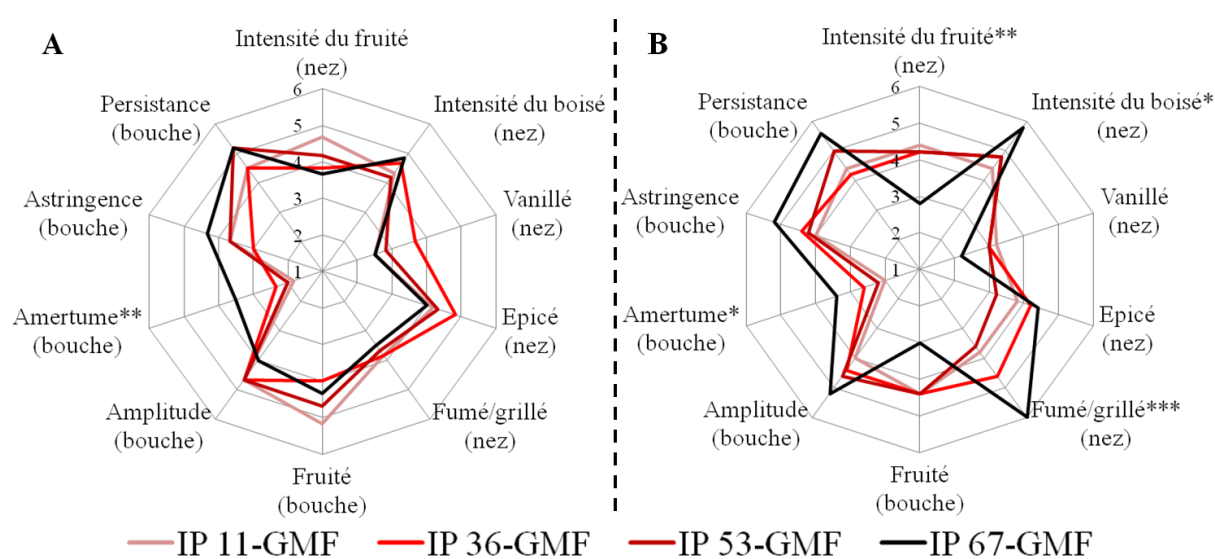


Figure 91 : Impacts organoleptiques sur l'assemblage CS/Merlot/Syrah élevé dans des fûts classés en fonction de leur IP déterminé par Oakscan® : **A** : après 6 mois d'élevage, **B** : après 12 mois d'élevage

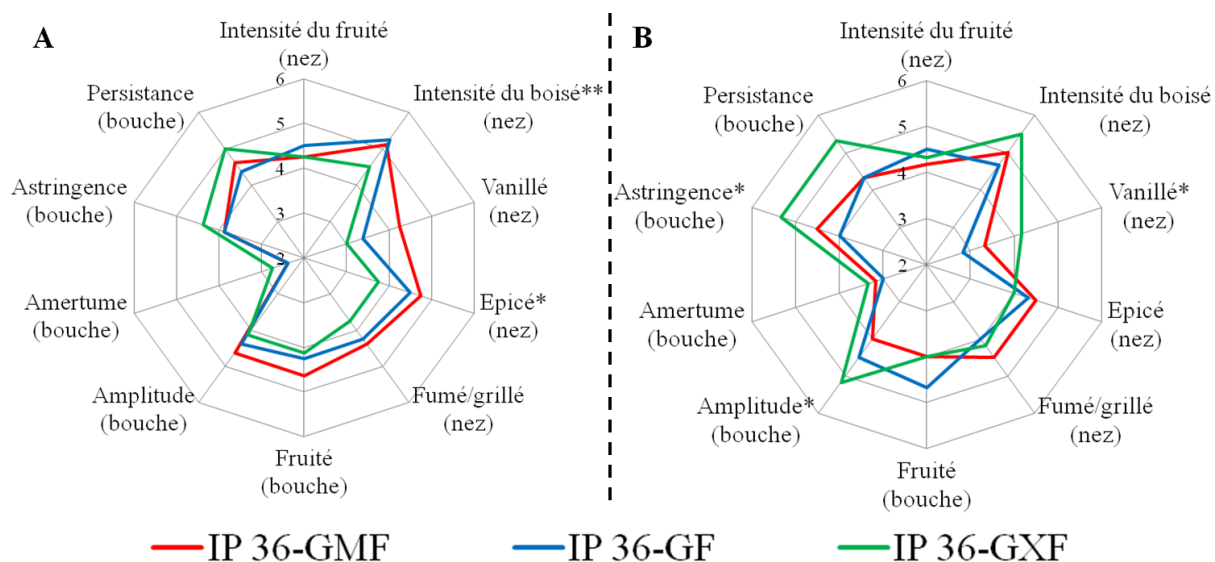
\* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$ , GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cerne moyenne de 3 mm)

Cet essai a également permis de déterminer l'impact du grain pour des IP de bois constant, sur les caractéristiques organoleptiques des vins. Après 6 mois d'élevage le grain a un impact au nez sur l'intensité du boisé ( $p < 0,4\%$ ), le vanillé ( $p < 7\%$ ) et l'épicé ( $p < 4\%$ ) (Figure 92). En effet, ces descripteurs sont jugés comme plus forts pour le vin élevé au contact de grains fins ou mi-fins. Ces différences sont corrélées avec la richesse généralement plus importante en polyphénols des bois lorsque leur taille de grain augmente



(cf chapitre 1, 1.5.). Néanmoins, les dosages des composés aromatiques retrouvés dans le vin ne sont pas corrélés avec la classification des bois (Tableau 39). En effet, les analyses des composés aromatiques boisés indiquent qu'un vin issu de grain extra fin serait riche en gaiacol et en whisky-lactones. D'autres composés que ceux dosés doivent donc entrer en jeu et leurs effets restent à apprécier.

A 12 mois d'élevage, une inversion de l'intensité du boisé notamment à travers celle du vanillé est observée. En effet, le vin élevé au contact de grains extra fins (IP 36-GXF) est perçu comme plus vanillé ( $p < 5\%$ ) (Figure 92). Avec ce grain, les extractibles du bois se solubilisent dans le vin plus lentement mais leurs quantités rattrapent puis dépassent celles des vins élevés au contact des autres grains (Tableau 39). Les perceptions en bouche sont également modulées par le grain avec un vin jugé comme plus ample ( $p < 2\%$ ) et astringent ( $p < 2\%$ ) lorsqu'il est élevé avec le grain extra fin (Figure 92). L'astringence peut s'expliquer par une intégration des tanins du bois plus tardive avec ce grain d'où cette perception d'astringence plus élevée sans avoir une concentration significativement différente entre les vins. Cette observation confirme celle obtenue à 12 mois pour l'essai précédent sur le vin 100% Merlot (cf chapitre 5, 1.5.) avec des grains extra fins conférant plus d'astringence au vin, certainement caractéristique d'un temps plus court pour l'intégration des ellagitanins. La persistance du vin élevé au contact avec le grain extra fin est ressentie comme plus longue ( $p < 10\%$ ) éventuellement en relation avec l'astringence du vin plus forte (Figure 92).





## 2.6. Conclusion

Le classement des bois par NIRS en fonction de leur IP a une nouvelle fois montré des effets potentiels sur les concentrations en ellagitanins du vin. Plus l'IP des bois augmente, plus les quantités d'ellagitanins retrouvées sont importantes. Les différences organoleptiques dues à cette augmentation des concentrations d'ellagitanins notamment sur l'astringence et l'amertume sont significativement perçues. De plus, l'augmentation de l'intensité du boisé au nez, surtout à travers le fumé/grillé, entraînant la diminution du fruité par effet masque [387] est corrélée à l'IP des bois. Néanmoins, les analyses des composés aromatiques retrouvés dans les vins n'ont pas permis d'expliquer l'ensemble des caractéristiques aromatiques des vins puisque les concentrations dans les vins de ces composés ne sont pas toujours liées à l'IP des bois. La classification des bois par rapport à leur IP ne permet pas ici d'obtenir des corrélations avec les concentrations d'arôme boisé dans les vins, notamment en aldéhydes furaniques, contrairement à l'expérimentation précédente (vin 100% Merlot). Les différences de pratiques de vinification et des caractéristiques des vins pourraient en être partiellement la cause.

Le classement des grains conduit à démontrer une influence notamment sur la cinétique d'évolution des concentrations en ellagitanins des vins. Comme précédemment observé, plus la taille du grain augmente, plus la cinétique d'extraction des ellagitanins est rapide avec un maximum et une diminution de leur concentration plus tôt au cours de l'élevage. Les conséquences sur les caractéristiques du vin, en particulier en bouche, sont perçues à travers plus d'astringence après 12 mois d'élevage pour le grain extra fin. L'intégration des tanins du bois avec ce type de grain extra fin est moins rapide et demande donc un élevage plus long. D'autres paramètres organoleptiques du vin sont influencés de manière significative comme le vanillé, l'amplitude et la persistance par le grain. Ces derniers sont jugés comme plus importants lors d'un élevage du vin au contact avec le grain extra fin durant 12 mois. Les ellagitanins du bois doivent jouer un rôle surtout sur la persistance à travers l'astringence, mais d'autres investigations doivent être menées notamment pour expliquer l'augmentation de l'amplitude.

### **3. Conclusion générale**

Ce chapitre a permis à la fois de confirmer l'influence de l'IP des bois et d'observer l'effet du grain sur les concentrations en ellagitanins et sur les qualités organoleptiques des vins. En effet, comme montré dans le chapitre 4, l'augmentation des IP des bois aboutit à une concentration en ellagitanins dans les vins plus importante ( $p < 0,2\%$ ) avec un maximum de concentration qui semble plus tardif et élevé au cours de l'élevage des vins. Lors des dégustations, cette augmentation de concentration de tanins du bois dans les vins influe directement sur l'astringence et l'amertume des vins en les augmentant (Tableau 40 **A**). La classification des arômes du bois en fonction de l'IP des bois montre ses limites. En effet, en fonction de l'origine et du nombre de mois d'élevage du vin ainsi que de la chauffe des bois, les concentrations en arôme du bois ne sont pas toujours corrélées avec l'IP des bois. Un nouvel étalonnage de l'appareil tenant compte des arômes permettrait d'améliorer la corrélation entre leurs concentrations et la classification des bois. Néanmoins, l'intensité du boisé a tendance à être augmentée avec l'IP des bois ce qui peut entraîner dans certains cas le masquage d'une partie du fruité (Tableau 40 **A**) [387].

Le grain des bois module également la cinétique d'extraction des constituants du bois avec une accélération de celle-ci lorsque le grain augmente. En effet, dans les premiers mois d'élevage, les grains mi-fins relarguent plus rapidement les extractibles du bois comme les ellagitanins. Ainsi, dans les premiers mois d'élevage, les vins élevés au contact avec de « gros » grains seront jugés comme plus astringents et plus amers (Tableau 40 **B**). Après 12 mois d'élevage, les concentrations en ellagitanins des vins élevés au contact de différents grains ne sont plus significativement différentes alors que les tanins du bois sont jugés dans les vins élevés au contact des plus gros grains comme moins astringent. En effet, le relargage de ces derniers plus rapide au début de l'élevage a permis une intégration au vin plus longue ce qui pourrait entraîner une diminution de leur astringence. L'amplitude est également influencée par le grain. Celle-ci diminue à 12 mois lorsque le grain augmente. L'hypothèse qui peut être formulée est que des composés qui seraient impliqués dans l'amplitude, comme les quercotriterpénosides, le maltol ou le cyclotène, seraient solubilisés plus rapidement au début de l'élevage puis transformés après 12 mois d'élevage dans les vins élevés au contact des grains les plus importants. Au niveau des arômes, les effets du grain sur le bouquet aromatique du vin est plus mitigé et limité. Néanmoins, l'intensité du boisé à travers le vanillé et l'épicé est impactée plus ou moins fortement en fonction du cépage et du terroir du vin et de la chauffe des bois (Tableau 40 **B**).

## A

Appellations	Cépages/ Assemblages	Millésime	IP barriques	Grains bois	IPT vin	Nombres de mois d'élevage	Chauffe (Temps/T°)	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Vanillé (nez)	Epicé (nez)	Fumé/Grillé (nez)	Fruité (bouche)	Amplitude (bouche)	Astringence (bouche)	Amertume (bouche)	Persistance (bouche)
Saint-Emilion	Merlot	2009	16, 41	GXF	61,25	6	75/280	→	↯↯↯ +41%	→	→	→	→	→	↯ +20%	↯↯↯ +89%	↯↯↯ +7%
Saint-Emilion	Merlot	2009	16, 41	GXF	61,25	12	75/280	→	→	→	→	→	↯↯ +17%	↯↯↯ +19%	→	→	→
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	11, 36, 53, 67	GMF	65,43	6	75/280	→	→	→	→	→	↯ -16%	→	↯↯↯ +91%	→	→
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	11, 36, 53, 67	GMF	65,43	12	75/280	↯↯ -36%	↯↯↯ +32%	→	→	↯↯↯ +58%	↯ -32%	→	↯ +30%	↯↯↯ +70%	→

## B

Appellations	Cépages/ Assemblages	Millésime	IP barriques	Grains bois	IPT vin	Nombres de mois d'élevage	Chauffe (Temps/T°)	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Vanillé (nez)	Epicé (nez)	Fumé/Grillé (nez)	Fruité (bouche)	Amplitude (bouche)	Astringence (bouche)	Amertume (bouche)	Persistance (bouche)
Saint-Emilion	Merlot	2009	41	GXF, GF	61,25	6	75/280	→	→	→	→	→	→	→	↯ -33%	↯↯↯ -47%	↯↯↯ -20%
Saint-Emilion	Merlot	2009	41	GXF, GF	61,25	12	75/280	→	→	→	→	→	→	↯↯ -14%	↯↯↯ -11%	→	→
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	36	GXF, GF, GMF	65,43	6	75/280	→	↯↯↯ +14%	↯ +42%	↯↯↯ +27%	→	→	→	→	→	→
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	36	GXF, GF, GMF	65,43	12	75/280	→	→	↯↯ -20%	→	→	→	↯↯ -23%	↯↯ -16%	→	↯ -19%

→ impact non significatif, ↯ p < 10%, ↯↯ p < 5%, ↯↯↯ p < 1%, ↯↯↯↯ p < 0,1%

Tableau 40 : Résumé des impacts sur les caractéristiques organoleptiques des vins de la classification des bois de chêne, **A** : par rapport à l'augmentation des IP des barriques, **B** ; par rapport à l'augmentation du grain des bois

GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)



**Chapitre 6 : Cinétique d'extraction des  
ellagitanins et impacts organoleptiques du bois  
de chêne lors d'un élevage en barriques neuves  
pour des vins à concentrations phénoliques  
(IPT) différentes**

# 1. Etude sur un vin d'assemblage CS/Merlot/Petit verdot

## 1.1. Caractéristiques du vin

Les raisins de Merlot, CS et Petit verdot sont récoltés en septembre 2009 sur des parcelles de l'appellation Médoc (France). Les fermentations alcoolique et malolactique se déroulent en cuve jusqu'à fin janvier, date à laquelle les assemblages sont mis en barriques neuves (Tableau 41). Les temps de macération des moûts sont réalisés de manière à obtenir deux vins avec des IPT différents, un IPT de 77 et un IPT de 84. Afin d'analyser les caractéristiques chimiques et organoleptiques des vins, un prélèvement, conservé à 16°C, est réalisé après 6 mois d'élevage.

Analyses des paramètres classiques						
Vins	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC	
IPT 77	2,41 ± 0,05	4,78 ± 0,01	151,81 ± 0,01	84,14 ± 0,03	1,22	
IPT 84	2,66 ± 0,02	5,35 ± 0,01	154,88 ± 0,01	85,35 ± 0,02	1,22	
Vins	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)			
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)	
IPT 77	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64	
IPT 84	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64	

Analyses des tanins moléculaires							
Vins	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatechine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
IPT 77	4,82 ± 0,24	29,94 ± 2,15	28,08 ± 2,14	10,15 ± 2,46	18,92 ± 2,27	17,89 ± 0,95	4,01 ± 1,01
IPT 84	6,28 ± 1,11	35,43 ± 3,63	30,71 ± 2,36	12,14 ± 3,82	22,89 ± 4,01	17,68 ± 1,35	4,43 ± 0,66

Analyses des anthocyanes moléculaires						
Vins	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)
IPT 77	3,25 ± 0,09	2,21 ± 0,01	5,39 ± 0,15	2,38 ± 0,11	11,19 ± 0,45	24,42 ± 0,79
IPT 84	3,73 ± 0,41	2,23 ± 0,02	5,67 ± 0,35	2,41 ± 0,12	11,99 ± 1,87	26,03 ± 2,77
Vins	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)
IPT 77	1,92 ± 0,02	6,52 ± 0,29	1,99 ± 0,04	4,79 ± 0,01	8,44 ± 0,29	6,78 ± 0,05
IPT 84	2,11 ± 0,13	7,22 ± 0,78	1,98 ± 0,05	5,02 ± 0,19	9,33 ± 0,91	6,99 ± 0,25

Analyses FOSS						
Vins	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH
IPT 77	120,01 ± 0,01	0,99 ± 0,01	14,24 ± 0,01	0,81 ± 0,01	2,11 ± 0,03	3,78 ± 0,01
IPT 84	114,01 ± 0,99	0,99 ± 0,01	14,79 ± 0,01	1,41 ± 0,01	2,81 ± 0,02	3,78 ± 0,01
Vins	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)
IPT 77	3,02 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,01 ± 0,02	1,02 ± 0,01	20,01 ± 0,01	84,01 ± 0,01
IPT 84	3,11 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,01 ± 0,01	1,01 ± 0,01	20,01 ± 0,01	77,01 ± 0,01

Tableau 41 : Caractéristiques chimiques des vins issus de l'assemblage Merlot/CS/Petit verdot (50/45/5)

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-O-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-O-glucoside, Pt-3-glc ; pétonidine-3-O-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-O-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-O-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-O-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-O-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 1.2. Mise en place de l'essai

Les barriques sont fabriquées à partir de bois, *Quercus robur* et *Quercus petraea* (France) séchés pendant 18 mois à l'air libre sur le site de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France) puis classifiés en fonction de leur indice polyphénolique [109] afin d'obtenir deux types de barriques ; un avec un IP moyen des bois de  $11 \pm 10$  et un second IP moyen des bois de  $62 \pm 6$ . Ces fûts, de type bordelais (225 L) en grain fin (largeur de cernes  $\approx 2$  mm), subissent tous la même chauffe, soit la chauffe « Révélation » (temps de chauffe court (60 min) avec une température modérée sans bousinage ( $T^\circ$  max lors du bousinage =  $230^\circ\text{C}$ )) de la société Radoux. Nous plaçons alors dans ces barriques les deux vins différents par leur IPT en vu de leur élevage afin d'obtenir 4 modalités ; deux barriques avec un IP moyen des bois de 11 dans lesquelles le vin IPT 77 est élevé (IPT77- IP 11), deux autres barriques avec un IP moyen de 62 dans lesquelles le même vin est élevé (IPT 77- IP 62) et le même protocole est suivi pour le vin d'IPT 84 (IPT 84- IP 11 et IPT 84- IP 62) (Figure 93).

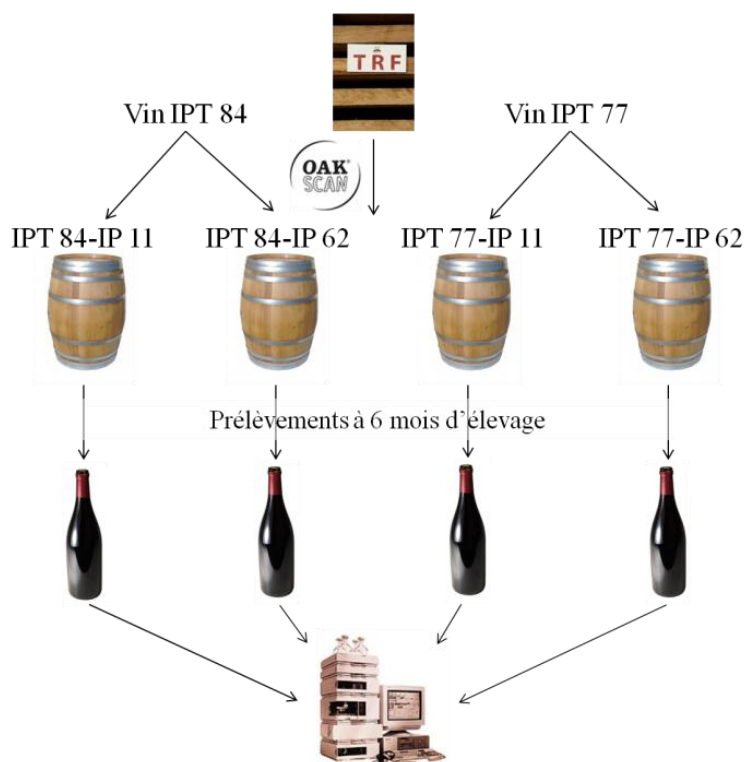


Figure 93 : Schéma du plan d'essai IPT/IP sur l'assemblage Merlot/CS/Petit verdot (50/45/5)

## 1.3. Analyses des ellagitanins dans le vin par hydrolyse acide

L'augmentation de l'IP des barriques est une nouvelle fois corrélée aux concentrations en ellagitanins des vins que ce soit pour le vin IPT 77 ou IPT 84 ( $p < 0,03\%$ ). En effet, les vins IPT 77 et 84 élevés dans les barriques à IP moyen de  $11 \pm 10$  ont des concentrations respectives de  $2,13 \pm 0,05$  et  $1,71 \pm 0,06$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge alors

que ces mêmes vins élevés dans les barriques d'IP moyen de  $62 \pm 6$  ont des concentrations respectives bien supérieures de  $3,76 \pm 0,16$  et  $2,97 \pm 0,05$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge soit des augmentations de concentrations en ellagitanins de 75% entre les IP 11 et 62 pour les deux vins (Figure 94).

L'IPT des vins joue également un rôle sur les concentrations des tanins ellagiques retrouvées dans les vins. Ainsi, que ce soit les vins élevés dans les barriques d'IP 11 ou d'IP 62, le vin ayant l'IPT le plus faible est celui qui possède la plus forte concentration en ellagitanins ( $p < 0,3\%$ ) (Figure 94). En effet, le vin d'IPT 77 élevé dans les barriques d'IP 11, après 6 mois d'élevage, a une teneur en ellagitanins de  $2,13 \pm 0,05$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge alors que celui d'IPT 84 élevé dans les barriques de même IP a une concentration plus basse à  $1,71 \pm 0,06$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 94). Le même écart est observé pour les vins élevés dans les barriques d'IP 62 avec des concentrations en ellagitanins respectives pour les vins IPT 77 et IPT 84 de  $3,76 \pm 0,16$  et  $2,97 \pm 0,05$  mg d'équivalent acide ellagique/L de vin rouge (Figure 94). La différence moyenne de concentration en ellagitanins entre les vins à IP de barrique constant est donc de 26%. Ces concentrations plus basses pour un vin à IPT fort seraient dues à des réactions de réarrangement entre les ellagitanins et les composés du vin (flavanol, anthocyanes...) formant ainsi de nouveaux composés (flavano-ellagitanins) plus nombreux que dans un vin dont l'IPT est plus faible [156, 166, 168, 379, 380].

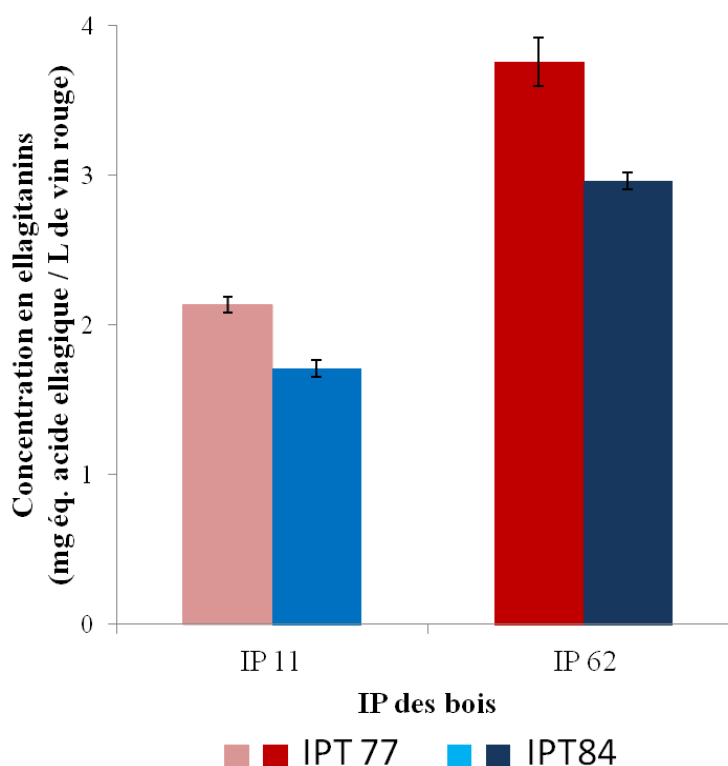


Figure 94 : Concentrations en ellagitanins des vins issus de l'assemblage Merlot/CS/Petit verdot après 6 mois d'élevage



## 1.4. Analyses des composés aromatiques du bois dans le vin

Après 6 mois d'élevage, les quantités d'arômes du bois retrouvées dans le vin sont généralement corrélées avec l'IP des bois (Tableau 42). En effet, les vins élevés dans les barriques d'IP 62 sont plus concentrés en arôme du bois excepté pour l'eugénol que pour les fûts d'IP 11. Ces différences d'apports d'arômes en fonction de l'IP qui ont parfois été observées précédemment, laissent penser à une corrélation entre le classement NIRS et la composition du bois principalement au niveau de la lignine et des hémicelluloses. Les vins élevés au contact de barriques à IP forts devraient donc être jugés lors des dégustations avec une intensité du boisé notamment à travers le fumé/grillé, l'épicé et le vanillé comme plus importante. Néanmoins, seules les concentrations des descripteurs de l'épicé (guaiacol) et du vanillé/coco (vanilline, *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone et *cis*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone) sont supérieures à leurs seuils de perception (Tableau 42). L'IPT des vins n'a pas d'effet notable sur les concentrations des arômes boisés dans les vins avec seulement le furfural et la *trans*  $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone qui ont des concentrations supérieures dans le vin d'IPT 77.

Composés aromatiques du bois ( $\mu\text{g} / \text{L}$ )	6 mois d'élevage				Seuils de perceptions ( $\mu\text{g} / \text{L}$ de vin rouge)
	IPT77- IP11	IPT77- IP62	IPT84- IP11	IPT84- IP62	
Guaiacol	13	16	13	15	10
4-méthylguaiacol	1	12	1	11	20
Eugénol	24	23	29	24	500
Syringol	41	51	45	55	1000
Furfural	6524	6950	3282	6273	20000
Alcool furfurylique	765	867	671	995	45000
5-méthylfurfural	678	850	702	757	45000
Vanilline	239	323	256	311	250
<i>trans</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	205	298	140	244	74
<i>cis</i> $\beta$ -méthyl- $\gamma$ -octalactone	253	258	210	262	320

Tableau 42 : Concentrations en composés aromatiques du bois de chêne des vins issus de l'assemblage Merlot/CS/Petit verdot (50/45/5) après 6 mois d'élevage

## 1.5. Analyses sensorielles

Après 6 mois d'élevage, les vins sont dégustés afin de voir les répercussions, sur leurs qualités organoleptiques, du tri des bois en fonction de leur IP et d'IPT des vins. Néanmoins, la modalité IPT 77- IP 11 n'a pu être dégustée à cause de déviations organoleptiques (acidité volatile trop élevée et oxydation du vin). L'influence de l'IP des bois se fait une nouvelle fois sur des descripteurs comme l'intensité du boisé, le fruité en bouche, l'astringence et la persistance (Figure 95). En effet, pour un vin de même IPT (IPT 84), le vin élevé dans les barriques IP 62 (modalité IPT 84- IP 62) est perçu avec une intensité du boisé ( $p < 4\%$ ) plus importante même si les descripteurs vanillé, épicé et fumé/grillé ne sont pas significativement

impactés. En bouche, ce même vin est décrit comme moins fruité ( $p < 0,5\%$ ) mais plus ample ( $p < 7\%$ ), astringent ( $p < 0,9\%$ ) et persistant ( $p < 4\%$ ) (Figure 95). Cette différence d'astringence en bouche est liée principalement à la concentration en ellagitanins plus élevée dans le vin placé dans les barriques riches en polyphénols (IP 62) que dans celle plus pauvre (IP 11). Cette augmentation d'astringence pourrait moduler également la persistance du vin en l'augmentant, comme cela a déjà été relevé précédemment (cf chapitre 5, 1.5.).

L'IPT des vins joue également un rôle en modulant les effets de la classification des bois en fonction de leur IP. Ainsi, les augmentations de l'intensité du boisé et de l'astringence dues à des IP des bois plus élevés sont moins importantes lorsque le vin possède un IPT plus bas. En effet, l'astringence du vin IPT 77-IP 62 est perçue égale à celle du vin IPT 84-IP 11, alors que ce dernier est au contact de bois plus faiblement concentrés en polyphénols. L'augmentation de l'IP des bois est donc « annulée » par la baisse de l'IPT du vin (Figure 95) et l'astringence du vin proviendrait dans ce cas d'effets cumulatifs entre l'astringence apportée par les tanins du raisin et par les tanins du bois. Un phénomène similaire est observé pour l'intensité du boisé qui augmente de façon moins importante dans le vin ayant un IPT faible. Le fruité en bouche est également un descripteur impacté par l'IPT du vin. En effet, pour une même modalité de barriques, ce dernier est mieux préservé dans le vin d'IPT 77 que dans celui d'IPT 84. Le caractère au nez plus boisé du vin IPT 84 peut influencer la description du vin en bouche en lui conférant un environnement gustatif plus boisé et donc un effet masque sur le fruité en bouche comme cela a pu être observé au nez [387]. L'amplitude est également modulée par l'IPT du vin et l'IP de la barrique. Le vin IPT 77 (moins concentré en polyphénols) pourrait conduire à une plus grande exaltation de l'amplitude par le biais de composés du bois extraits lors de l'élevage (maltol [381], quercotriterpénosides [127]...) (Figure 95).

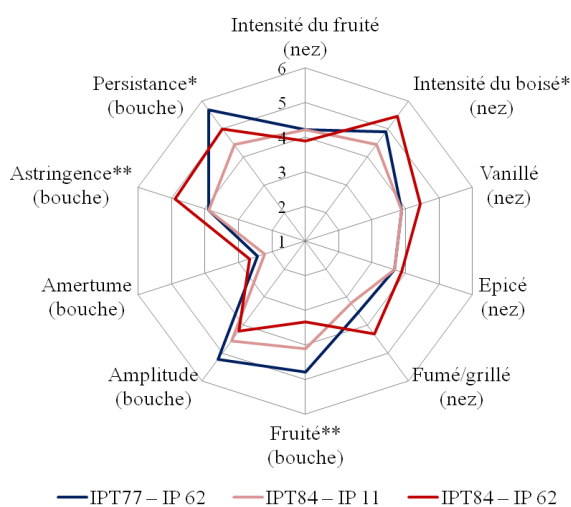


Figure 95 : Impacts organoleptiques des bois classés en fonction de leur IP (IP 11 et IP 62) sur les deux vins d'IPT différents (IPT 77 et IPT 84)

\* =  $p < 5\%$ , \*\* =  $p < 1\%$ , \*\*\* =  $p < 0,1\%$

## 1.6. Conclusion

L'évolution des ellagitanins en fonction de l'IP des bois et de l'IPT des vins a pu être étudiée. Nous mettons en évidence une corrélation de l'augmentation des IP des bois avec les concentrations en ellagitanins dans les vins quelque soit l'IPT du vin ( $p < 0,03\%$ ). Néanmoins, le vin le plus riche en polyphénols (IPT 84) a toujours une concentration en tanins du bois moins importante que celle du vin le moins riche (IPT 77) (- 20%) alors qu'ils sont élevés dans des barriques de même IP ( $p < 0,3\%$ ). Ces différences de concentrations entre les vins élevés dans des barriques de même IP seraient dues à des réactions (formation de flavano-ellagitanins) entre les ellagitanins et les polyphénols du vin plus importantes dans le vin le plus riche (IPT 84).

Les concentrations des composés aromatiques boisés dosés dans les vins après 6 mois d'élevage sont pour la plupart corrélées avec les classifications NIRS des bois. En effet, les vins élevés au contact de barriques avec un fort IP possèdent une concentration en composés aromatiques plus élevée. L'IPT des vins n'a pas d'influence sur ces concentrations.

Lors des analyses sensorielles, les impacts des IP des bois sont observés avec une intensité du boisé ( $p < 4\%$ ), une amplitude ( $p < 7\%$ ), une astringence ( $p < 0,9\%$ ) et une persistance ( $p < 4\%$ ) plus importantes alors que le fruité en bouche tend à diminuer ( $p < 0,5\%$ ) (Tableau 43 **A**). Les ellagitanins apparaissent comme les principales molécules qui jouent un rôle sur les différences d'astringence perçues pour les deux vins. De plus, un faible IPT du vin joue un rôle modérateur sur l'augmentation de l'astringence et de l'intensité du boisé ainsi que sur la diminution du fruité en bouche. En effet, pour un IP de la barrique constant, le fruité est mieux respecté et l'astringence et l'intensité du boisé augmentent moins dans le vin d'IPT 77 que dans celui d'IPT 84 (Tableau 43 **B**). L'intensité de l'astringence perçue comme plus forte dans le vin d'IPT 84 serait due à un effet cumulatif de l'astringence des tanins du bois [26-28] avec celle des tanins du raisin [14, 17, 18]. L'amplitude pourrait par contre être issue de l'influence d'autres molécules du bois comme le maltol [381], le cyclotène ou les quercotriterpénosides [127] qui seraient perçues plus facilement dans un vin d'IPT plus faible.



**Chapitre 7 : Suivi cinétique des concentrations  
en oxygène d'un vin rouge lors d'un élevage en  
barriques neuves**

# 1. Etude sur un vin d'assemblage CS/Cabernet franc (CF)

## 1.1. Caractéristiques du vin

Les raisins de CS et de Cabernet franc (CF) sont récoltés en Septembre 2011 dans l'appellation Pessac-Léognan (France). Une fois les deux variétés assemblées (CS/CF (93/7) (vol/vol)), la fermentation alcoolique en cuves inox de 156 hL thermostatée à 25°C est réalisée sur 100 hL de moût. Un levurage (Actiflore cerevisiae®, Laffort) à 11,62 g/hL est effectué et complété par un ajout d'azote (THIAZOTE®, Laffort) 4 jours plus tard à 11,62 g/hL. Puis, la fermentation malolactique se déroule en 60 jours. En décembre 2011, le vin (CS/CF (93/7) (vol/vol)) (Tableau 44) est entonné dans des barriques neuves avec un système qui permet de mesurer les concentrations en oxygène de façon non invasive. Ces barriques sont placées dans un chai semi-enterré dont la température oscille entre 10 et 20 °C.

Analyses des paramètres classiques							
Vin	Polyphénols totaux (g GAE/L)	Proanthocyanidines (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Pigments polymérisés (Indice)	IC	SO <sub>2</sub> total (mg/L)	
CS/CF- T0	5,88 ± 0,08	3,63 ± 0	727,56 ± 0	57,05 ± 0,01	1,22	0,82 ± 0,04	
Vin	IC'	Teinte	Contribution de chaque coloration (%)			SO <sub>2</sub> libre (mg/L)	
			Jaune (Do 420)	Rouge (Do 520)	Mauve (Do 620)		
CS/CF- T0	1,39	0,71	36,21	51,15	12,64	41 ± 2,05	
Analyses des tannins moléculaires							
Vin	Dimère B1 (mg/L)	Dimère B3 (mg/L)	Catéchine (mg/L)	Dimère B4 (mg eq. B1/L)	Dimère B2 (mg/L)	Epicatechine (mg/L)	Trimère C1 (mg/L)
CS/CF- T0	6,52 ± 0,33	23,92 ± 1,2	31,96 ± 1,6	5,21 ± 0,26	11,99 ± 0,6	18,5 ± 0,92	9,22 ± 0,46
Analyses des anthocyanes moléculaires							
Vin	Df-3-glc (mg/L)	Cy-3-glc (mg/L)	Pt-3-glc (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-glc (mg/L)	M-3-glc (mg/L)	Σ glucosilé (mg/L)	
CS/CF- T0	44,41 ± 2,22	2,61 ± 0,13	24,23 ± 1,21	8,38 ± 0,42	139,62 ± 6,98	219,24 ± 10,96	
Vin	Pn-3-act (mg eq. Pn-3-glc/L)	Mal-3-act (mg eq. M-3-glc/L)	Pn-3-cm (mg eq. Pn-3-glc/L)	M-3-cm (mg eq. M-3-glc/L)	Σ acétylé (mg/L)	Σ coumaroylé (mg/L)	
CS/CF- T0	4,32 ± 0,22	57,43 ± 2,87	2,78 ± 0,14	17,1 ± 0,85	61,74 ± 3,09	19,88 ± 0,99	
Analyses FOSS							
Vin	CO <sub>2</sub> (mg/L)	Densité	TAV (% Vol)	Glucose-Fructose (g/L)	Sucres Réducteurs (g/L)	pH	
CS/CF- T0	94 ± 1	0,99 ± 0,01	13,31 ± 0,01	0,71 ± 0,12	0,91 ± 0,06	3,72 ± 0,01	
Vin	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acidité volatile (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Acide malique (g/L)	Acide lactique (g/L)	Tsat (°C)	IPT (Indice)	
CS/CF- T0	3,28 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,09 ± 0,04	1,31 ± 0,01	17 ± 0,01	67 ± 1	

Tableau 44 : Caractéristiques du vin d'assemblage CS/CF (93/7) à l'entonnage mois d'élevage

IC ; intensité colorante, IC' ; intensité colorante modifiée, Df-3-glc ; delphinidine-3-O-glucoside, Cy-3-glc ; cyanidine-3-O-glucoside, Pt-3-glc ; pétunidine-3-O-glucoside, Pn-3-glc ; paeonidine-3-O-glucoside, M-3-glc ; malvidine-3-O-glucoside, Pn-3-act ; paeonidine-3-O-acétylglucoside, M-3-act ; malvidine-3-O-acétylglucoside, Pn-3-cm ; paeonidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, M-3-cm ; malvidine-3-O-(p-coumaroyl) glucoside, TAV ; titre alcoométrique volumique, AT ; acidité totale, AV ; acidité volatile, t sat ; température de saturation, IPT ; indice de polyphénols totaux

## 1.2. Mise en place de l'essai

Pendant 18 mois, les bois, *Quercus robur* et *Quercus petraea* (France), sont séchés à l'air libre sur le parc à bois de la Tonnellerie Radoux (Jonzac, France). Lors de la fabrication de la barrique, ces bois sont classifiés par un opérateur en fonction de leur grain (grain extra fin (GXF) (largeur de cernes < 1,5 mm), grain fin (GF) (largeur de cernes  $\approx$  2 mm) et grain moyen (GM) (largeur de cernes > 3 mm) puis par Oakscan® en fonction de leur indice polyphénolique (IP 18, 41, 61) [109]. Ces barriques ont une contenance de 225 L et ont subi la chauffe « Révélation » (temps de chauffe très court (60 min) avec une température modérée et sans bousinage ( $T^\circ$  max lors du bousinage =  $230^\circ\text{C}$ )) de la tonnellerie RADOUX. Ensuite, huit « fenêtres » permettant les mesures d'oxygène sont disposées sur la barrique (Figure 96) (cf chapitre 2, 4.). Ces points de mesure sont constitués d'un tube métallique creux légèrement conique positionné sur la barrique (Figure 96). A l'extrémité de ce tube, un rond en verre, sur lequel une pastille PreSens (cf chapitre 2, 4.) est collée en son centre, est placé sur la face interne de la barrique. Cinq types de barriques toutes fabriquées en duplicatas sont obtenus : IP 18-GF, IP 41-GF, IP 61-GF, IP 41-GXF et IP 41-GM (Figure 97). Les mesures des concentrations en oxygène dissous du vin sont faites deux fois par jour (vers 9h30 et 14h30) pendant les douze premiers jours suivant l'entonnage des vins puis tous les jours pendant une semaine et enfin une fois par semaine.



Figure 96 : Barriques expérimentales pour la mesure de l'oxygène dissous du vin CS/CF (93/7 (vol/vol))

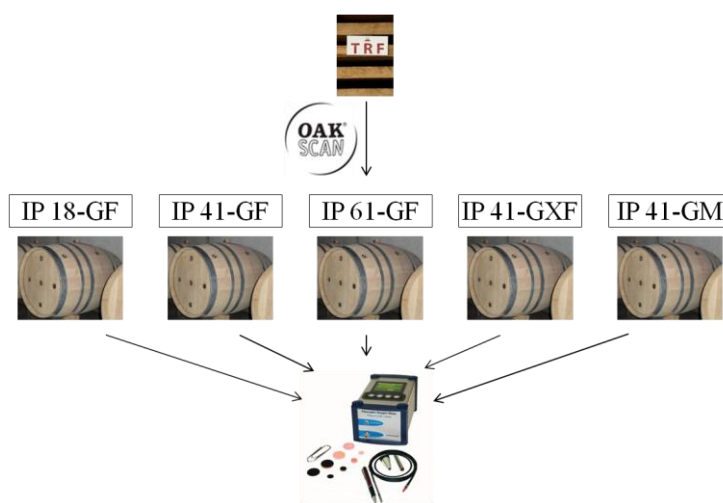


Figure 97 : Schéma du plan d'essai pour les mesures d'oxygène sur le vin d'assemblage CS/CF (93/7)

### 1.3. Analyses de la consommation d'oxygène par le vin

Les analyses des concentrations moyennes (moyenne des 8 points de mesure/barrique) en oxygène dans le vin montrent une rapide diminution de celles-ci dans toutes les barriques, puis une très faible vitesse de décroissance jusqu'à des teneurs en oxygène inférieures à 1 ppb (Figure 98). En effet, ces concentrations passent d'une moyenne de  $5138,65 \pm 341,37$  à  $187,29 \pm 25,08$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge en seulement 8 jours ce qui représente une consommation de 96,36% de l'oxygène dissous à la vitesse moyenne de  $582,21 \pm 4,36$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour. Ensuite, les teneurs en oxygène du vin diminuent lentement, de  $187,29 \pm 25,08$  à  $76,90 \pm 4,37$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge en 97 jours (vitesse moyenne de  $12,99 \pm 4,39$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour) pour arriver à des teneurs inférieures à 1  $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge (limite de détection de l'appareil) lorsque la température du chai se maintient au dessus de  $18^\circ\text{C}$  (Tableau 45). Cette forte consommation est due aux molécules antioxydantes du vin [169] comme l'acide gallique, la quercétine, les tanins du raisin ou les anthocyanes (cf chapitre 1, 2.2.4.) [232, 264] mais aussi à celles apportées par le bois comme les ellagitannins (cf chapitre 1, 1.6.2.) [170].

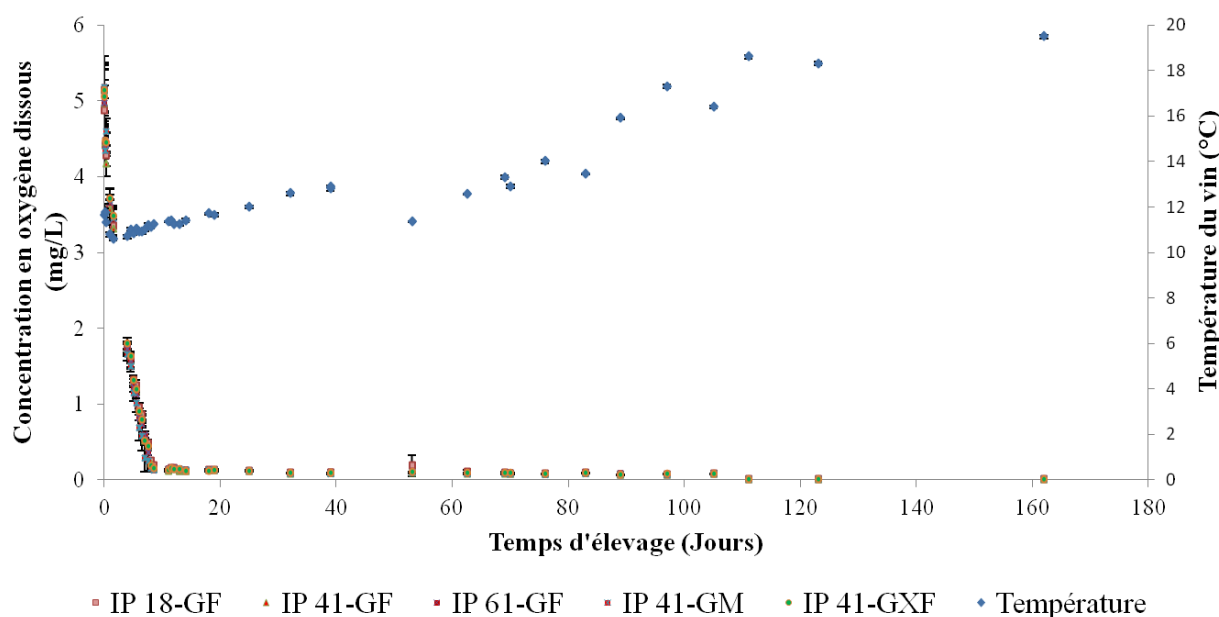


Figure 98 : Evolution globale des concentrations en oxygène du vin CS/CF (93/7) pour les différentes modalités de barrique et de la température du vin



Temps d'élevage (jours)	Température (°C)	IP 18-GF	IP 41-GF	IP 61-GF	IP 41-GM	IP 41-GXF
		Oxygène dissous (µg/L)	Oxygène dissous (µg/L)	Oxygène dissous (µg/L)	Oxygène dissous (µg/L)	Oxygène dissous (µg/L)
0,02	11,65	5138,65±269,59	5138,65±454,99	5138,65±334,65	5138,65±370,52	5138,65±277,08
0,04	11,70	4866,01±171,38	4964,46±307,35	4965,59±239,11	5174,81±318,33	5058,75±222,86
0,13	11,75	4416,43±123,54	4445,04±205,32	4476,35±164,16	4341,85±166,38	4467,57±148,61
0,36	11,3	4276,02±141,76	4171,76±160,65	4424,43±150,19	4587,5±182,03	4450,68±137,81
1	10,8	3574,58±119,27	3564,61±138,92	3658,96±101,31	3692,2±151,94	3715,29±118,97
1,5	10,6	3351,05±124,1	3309,01±129,11	3447,96±124,63	3458,4±132,37	3482,07±131,63
4	10,7	1758,64±73,69	1721,72±64,76	1722,65±91,58	1647,21±76,78	1793,66±76,73
4,5	11	1611,3±73,56	1563,94±95,92	1568,89±78,42	1488,85±66,87	1627,35±62,9
5	10,85	1309,69±65,87	1272,99±52,04	1221,43±56,82	1140,33±101,65	1309,02±60,44
5,5	11,05	1236,65±78,73	1168,22±50,07	1128,91±49,38	1012,52±115,97	1195,34±55,12
6	10,9	952,05±59,17	897,46±44,57	820,72±39,58	688,19±164,63	896,5±41,82
6,5	10,9	848,78±57,27	799,01±47,21	729,53±39,13	569,85±184,04	788,66±79,41
7	11	557,25±47,22	518,79±41,31	589,08±49,91	286,17±174,85	515,81±34,64
7,5	11,2	481,69±47,01	429,8±39,59	352,78±30,56	249,39±134,48	462,56±30,53
8	11,1	245,57±36,3	205,43±27,58	151,1±13,16	144,65±21,74	189,69±26,63
8,5	11,25	189,53±32,49	153,36±28,39	130,46±13,31	121,58±11,81	145,52±22,95
11	11,35	127,19±13,27	114,87±7,03	132,46±13,56	120,95±8,55	120,83±14,64
11,5	11,4	149,23±7,32	152,73±14,22	155,09±10,63	135,92±14,05	146,17±7,77
12	11,25	147,97±6,87	142,64±8,65	148,44±8,81	134,05±8,62	143,57±12,85
13	11,25	116,49±6,14	114,87±7,88	140,45±7,73	132,8±11	134,48±5,77
14	11,4	113,97±11,66	117,39±12,3	123,14±10,63	121,58±13,76	118,88±10,37
18	11,7	123,41±13,09	129,38±16,05	125,8±12,61	121,58±10,11	118,23±9,64
19	11,65	122,78±10,81	120,55±14,49	129,8±19,28	121,58±15,05	120,83±19,4
25	12	116,93±4,18	115,24±6,16	114,29±7	118,83±6,65	116,68±8,45
32	12,6	86,89±4,88	82,68±5,32	83,87±3,52	82,3±4,32	85,75±4,5
39	12,8	88,47±7,43	83,94±5,74	86,07±4,08	81,05±4,25	87,31±5,66
39,02	12,9	88,03±7,84	86,53±7,67	87,53±2,67	81,8±5,58	87,51±5,59
53	11,35	186,32±142,38	93,41±3,61	99,05±11,34	92,9±6,72	98,88±7,94
62,5	12,55	103,58±26,84	79,9±3,76	83,54±3,43	77,06±2,3	84,91±4,5
69	13,3	94,95±13,9	80,53±4,47	87,66±4,79	76,87±4,31	85,43±7,36
70	12,9	81,73±3,34	80,47±3,94	83,87±3,09	77,44±2,54	84,45±4,78
76	14	74,85±3,27	72,11±2,77	74,91±2,72	69,74±2,7	77,79±5,54
83	13,45	89,7±3,84	85,93±4,74	90,09±2,99	83,44±1,76	91,62±4,5
89	15,9	71,3±3,31	70,17±3,72	72,45±2,81	64,7±2,04	70,17±4,9
97	17,3	71,03±3,83	70,31±4,62	70,79±4,77	61,35±1,96	72,88±6,3
105	16,4	76,84±3,66	75,1±4,03	78,92±4,64	75,3±5,59	78,35±3,95
111	18,6	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
123	18,3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
162	19,5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

Tableau 45 : Moyennes des seize mesures (huit mesures/barrique de même modalité) d'oxygène dissous

GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GM : Grain Moyen (largeur de cernes supérieure à 3 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm), °C : degré Celsius

De plus, des différences de consommations d'oxygène sont observées ( $p < 0,01\%$ ) entre les différentes modalités pour le même vin élevé dans les barriques. Or, seul le bois au contact avec ce vin possède des caractéristiques différentes (teneurs en polyphénols et grain). Ces variations de consommation d'oxygène, dues au bois de chêne des barriques, seront développées ci-dessous.

### 1.3.1. Consommation en oxygène en fonction de l'IP de la barrique

Entre les barriques d'IP différents, des variations significatives des concentrations en oxygène sont observées entre le sixième et le huitième jour après entonnage ( $p < 2\%$ ) (Figure 99). Les teneurs en oxygène, entre 6 et 8,5 jours après entonnage, deviennent de plus en plus élevées dans IP 18-GF que dans IP 41-GF passant de + 6,08% ( $952,05 \pm 59,17$  pour l'IP 18-GF contre  $897,46 \pm 44,57$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge pour l'IP 41-GF) après 6 jours d'entonnage à + 23,58% ( $189,53 \pm 32,49$  pour l'IP 18-GF contre  $153,36 \pm 28,39$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge pour l'IP 41-GF) après 8,5 jours (Tableau 45). Les teneurs en oxygène dissous de IP 41-GF sont elles-mêmes significativement plus importantes que dans IP 61-GF avec une augmentation de la concentration de + 9,35% 6 jours après l'entonnage du vin ( $897,46 \pm 44,57$  pour l'IP 41-GF contre  $820,72 \pm 39,58$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge pour l'IP 61-GF) à + 35,96% après 8 jours ( $205,43 \pm 27,58$  pour l'IP 41-GF contre  $151,10 \pm 13,16$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge pour l'IP 61-GF). Ces différences de concentration sont le résultat de vitesses de consommation de l'oxygène par le vin significativement différentes et corrélées avec l'IP des bois. En effet, pendant les huit premiers jours, celles-ci sont respectivement de 575,66 ; 580,38 et 586,77  $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour pour les IP 18-GF, IP 41-GF et IP 61-GF.

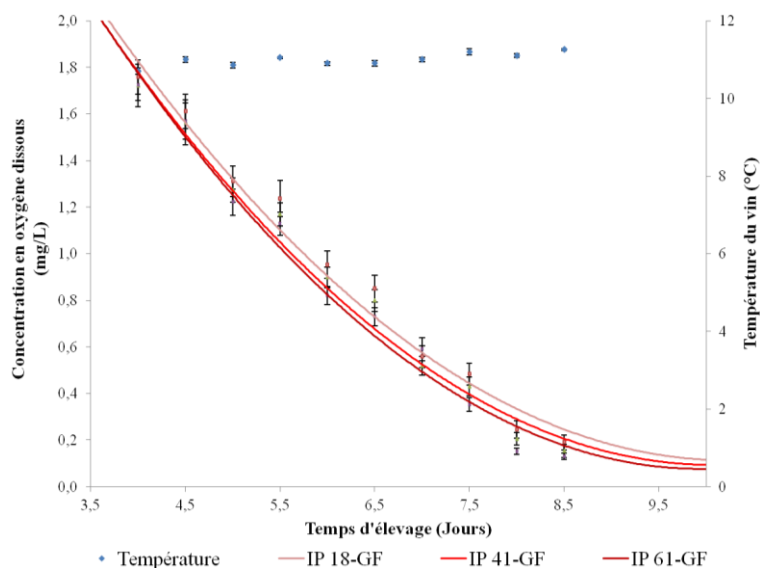


Figure 99 : Zoom entre 3,5 et 10 jours après entonnage sur les concentrations en oxygène du vin CS/CF (93/7) dans les barriques d'IP différents  
GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), °C : degré Celsius

Cette cinétique est corrélée avec les résultats des chapitres précédents qui ont montré que les concentrations en ellagitanins dans les vins augmentaient avec l'IP des bois. Plus le vin est riche en ellagitanins, plus sa consommation d'oxygène serait élevée. Ainsi, lorsque l'IP des bois de chêne de la barrique augmente de 127%, la vitesse de consommation de

l'oxygène dissous pour un vin rouge CS/CF (93/7 (vol/vol)) croît de près de 2% les huit premiers jours après entonnage. Le rôle joué par l'apport polyphénolique du bois au vin, en particulier les ellagitanins, serait significatif sur la consommation d'oxygène. Certaines molécules du vin (anthocyanes, tanins...) qui réagissent moins vite avec l'oxygène que les ellagitanins, seraient donc mieux protégées des chocs oxydatifs lorsque le vin a une teneur en ellagitanins élevée. Ces résultats suivent les données de la bibliographie [169] mais sont observés pour la première fois par des mesures non intrusives lors d'un élevage en barrique.

### **1.3.2. Consommation en oxygène en fonction du grain de la barrique**

Les consommations en oxygène entre les barriques constituées de bois de divers grains se révèlent également significativement différentes ( $p < 4\%$ ) entre le cinquième et le huitième jour après l'entonnage. La consommation en oxygène du vin contenu dans la barrique ayant le plus gros grain (IP 41-GM) se révèle significativement plus rapide ( $v = 587,53 \mu\text{g d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour}$ ) qu'avec les deux autres types de barriques ( $580,38$  et  $582,23 \mu\text{g d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour}$  respectivement pour IP 41-GF et IP 41-GXF) (Figure 100). En effet, 7,5 jours après l'entonnage, le vin contenu dans les barriques IP 41-GXF et IP 41-GF ont des concentrations respectives de  $436,56 \pm 30,53$  et  $429,80 \pm 39,59 \mu\text{g d'oxygène dissous/L de vin}$ , alors que le même vin contenu dans la barrique IP 41-GM a une concentration de seulement  $249,39 \pm 134,48 \mu\text{g d'oxygène dissous/L de vin rouge}$ . Or l'étude sur la cinétique d'extraction des ellagitanins par le vin en fonction du grain des barriques (cf chapitre 5) a montré que le vin extrait plus vite les composés phénoliques du bois, donc les ellagitanins, lorsque le grain du bois de chêne est plus large. Néanmoins, dans cet essai, seul le vin élevé dans la barrique IP 41-GM voit sa vitesse de consommation d'oxygène significativement plus rapide que pour le même vin élevé dans les barriques IP 41-GF et IP 41-GXF. Le vin contenu dans cette barrique se chargerait en ellagitanins plus rapidement ce qui expliquerait une consommation en oxygène plus forte.

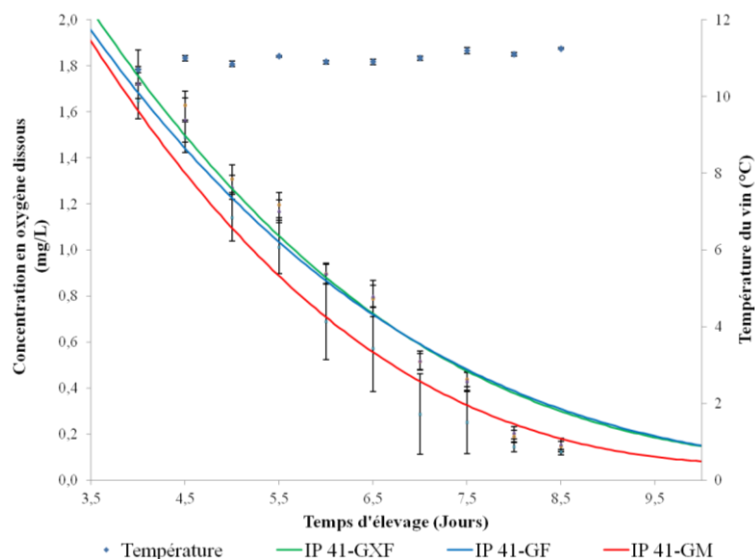


Figure 100 : Zoom entre 3,5 et 10 jours après entonnage sur les concentrations en oxygène du vin CS/CF (93/7 (vol/vol)) dans les barriques de grains différents

GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GM : Grain Moyen (largeur de cernes supérieure à 3 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm), °C : degré Celsius

## 1.4. Conclusion

Le suivi de la cinétique de la concentration en oxygène du vin lors d'un élevage avec des barriques ayant soit un IP, soit un grain différent a montré l'impact du bois sur celle-ci. En effet, plus l'IP de la barrique est élevé et plus la consommation en oxygène du vin est importante. Le même phénomène se produit pour les teneurs en oxygène du vin élevé au contact d'un bois ayant le plus gros grain. Ces consommations plus rapides s'expliquent par une teneur en ellagitanins plus importante dans les vins. En effet, les chapitres précédents ont montré que plus l'IP ou plus le grain du bois augmente et plus les concentrations en ellagitanins dans le vin sont importantes. Or, les ellagitanins sont connus pour leur pouvoir antioxydant ce qui expliquerait que plus leurs concentrations dans le vin seront élevées, plus ils réagiront avec l'oxygène et donc diminueront sa concentration.

## **Conclusions générales et perspectives**

Cette étude a permis d'analyser dans un premier temps la composition chimique d'échantillons de bois de chêne destinés à la tonnellerie ou aux produits alternatifs (type staves) en relation avec une classification proche infrarouge (NIRS) mise en place au sein de la chaîne de fabrication du tonnelier RADOUX (Oakscan®). Les teneurs en ellagitanins des bois de chêne ont confirmé l'existence d'une forte hétérogénéité entre les différents arbres en fonction notamment de l'espèce, de l'origine géographique, de l'âge, du grain ou encore de la position de la pièce de bois dans le tronc [1, 132, 155]. En effet, les teneurs retrouvées dans notre étude se situent entre  $5,95 \pm 0,30$  et  $32,91 \pm 0,98$  mg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec soit un facteur de 5,5 (cf chapitre 4, 1.3.1.). Ces concentrations sont corrélées avec la classification NIRS des bois effectuée par Oakscan® ( $p < 0,02\%$ ), avec des extrémités de classes qui se chevauchent. Lorsque ceux-ci deviennent trop importants, les classes Oakscan® se retrouvent non significativement différentes. C'est pourquoi, l'IP moyen des classes Oakscan® doit être différent d'au moins 5 points d'IP. Ces différences de concentrations sont également accompagnées d'une forte variabilité de composition des bois entre les différents ellagitanins moléculaires, sans influence sur la classification des bois par NIRS. Le classement des bois par Oakscan® se révèle plus pertinent que les méthodes de classifications traditionnelles telles que l'origine, l'espèce ou encore le grain.

Dans un second temps, les répercussions de cette classification des bois sur les caractéristiques chimiques des vins, notamment en ce qui concerne les teneurs en ellagitanins, ont été étudiées au cours d'élevages en caves et châteaux soit en cuve (au contact d'alternatifs), soit en barriques (contenance de 225 ou 300 L). Des profils de concentrations similaires en ellagitanins sont retrouvés pour les bois et pour les deux types d'élevage (cuve et barrique) dans les vins. Ainsi les vins élevés au contact des bois les plus riches en polyphénols vont atteindre des concentrations en ellagitanins significativement supérieures ( $p < 5\%$ ) aux mêmes vins élevés à l'aide de bois à faible teneur en ces composés. La limite par rapport aux classes d'IP a pu être établie : les vins élevés au contact de bois de chêne appartenant à des classes d'IP différentes de moins de 10 points peuvent ne plus être significativement différents au niveau de leurs concentrations en ellagitanins ( $p > 26\%$ ). Ceci est dû à la variabilité de plusieurs paramètres comme le traitement thermique des bois (chauffé aromatique...), les méthodes de fabrication des fûts (non classification NIRS des bois des fonds...), l'épaisseur des douelles, le grain du bois mais aussi la nature du vin (cépage, concentration en composés polyphénoliques totaux, appellation d'origine...) qui vont « lisser » les différences de teneurs en ellagitanins des bois retrouvées dans les vins.

La différence de concentration en ellagitanins des bois est le paramètre qui influence le plus la cinétique d'évolution de ces derniers dans le vin. En effet, plus un vin est élevé au

contact de bois riches en ellagitanins et plus le maximum de concentration des ellagitanins dans ce dernier sera élevé et tardif au cours de l'élevage. Ainsi un même vin rouge élevé dans des barriques dont les IP sont compris entre 21 et 70 aura un maximum de concentration se situant entre le 4<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> mois. De plus, lorsque l'IP des bois de la barrique croît, le temps d'atteinte du maximum en ellagitanins du vin augmente, puis la décroissance des concentrations en tanins ellagiques des vins qui suit sera plus faible.

Néanmoins, les différences d'IPT des vins ainsi que celles du grain et de la chauffe des bois jouent également un rôle sur la cinétique d'extraction des ellagitanins et sur leurs teneurs dans les vins. Ainsi, un vin dont l'IPT sera élevé aura une concentration en ellagitanins plus faible que celle retrouvée dans un vin moins riche en polyphénols. Cette différence de concentration doit être due à une transformation des ellagitanins (flavano-ellagitanins) plus importante en présence d'une concentration en polyphénols du vin plus forte [26-28]. L'analyse de la formation des adduits entre les polyphénols du vin en fonction de son IPT et les ellagitanins devra être menée.

Par ailleurs, les résultats obtenus pour l'influence des grains du bois de chêne sur la cinétique d'extraction des ellagitanins des bois par le vin permettent de conclure à une solubilisation plus rapide des extractibles du bois lorsque le grain augmente. Ainsi, pendant les premiers mois d'élevage, la concentration en tanins ellagiques des vins élevés au contact de grain « plus gros », mais ayant les mêmes IP, augmente plus rapidement que lorsque le vin est élevé au contact de grains plus resserrés ( $p < 5\%$ ). Néanmoins, à partir de 12 mois d'élevage, les extractibles du bois accessibles au vin sont extraits en majorité quelque soit le grain, la variabilité des concentrations en ellagitanins dans le vin élevé au contact de différents grains s'annule ( $p > 21\%$ ).

Un autre critère étudié qui met en jeu dans la modulation de la cinétique d'évolution des concentrations en ellagitanins est la chauffe. Une chauffe courte et à basse température dégrade moins les ellagitanins [108]. Un phénomène similaire à celui d'une augmentation de l'IP des bois est donc observé avec une cinétique des concentrations en ellagitanins du bois de chêne dans le vin modifiée. En effet, lorsque la chauffe du bois de chêne est plus forte, le maximum de concentration des ellagitanins dans le vin est moins élevé et plus précoce au cours de l'élevage qu'avec des bois de chêne de même IP mais subissant une chauffe plus légère.

L'analyse moléculaire (sans acidolyse) des ellagitanins dans le vin a permis de mettre en évidence la vitesse de réaction plus élevée de certains tanins ellagiques (vescalagine et roburine A) avec les constituant du vin (tanins, anthocyanes, éthanol). En effet, par rapport

aux autres ellagitanins (castalagine, grandinine, roburine B, roburine C, roburine D et roburine E), le pourcentage au cours de l'élevage représenté dans le vin par la vescalagine ( $5,48 \pm 0,33\%$ ) et par la roburine A ( $1,28 \pm 0,31\%$ ) est plus faible que celui retrouvé dans le bois (respectivement  $26,49 \pm 5,62\%$  et  $4,86 \pm 2,20\%$ ) soit des différences d'un facteur cinq et quatre. La diminution de la vescalagine a déjà été observée dans la bibliographie, cette dernière réagissant avec les molécules du vin comme l'éthanol, les tanins ou les anthocyanes [71, 168]. Par contre, la diminution de la roburine A n'était pas attendue, son site de réaction étant le même que celui de la castalagine (qui elle ne réagit pas avec les composés du vin). L'analyse de la formation d'adduits possible avec des molécules du vin (tanins, anthocyanes...) ou de produits de dégradation par hydrolyse ou oxydation de la roburine A reste à étudier.

Le dosage des composés aromatiques du bois de chêne montre que plusieurs d'entre eux, notamment ceux participant à l'expression du fumé/grillé (furfural, alcool furfurylique, 5-méthylfurfural, guaiacol) et du vanillé (vanilline, whisky-lactones *cis* et *trans*), voient généralement leurs concentrations corrélées avec l'IP des bois. La classification NIRS des ellagitanins entraînerait donc, en parallèle, une classification des bois selon d'autres critères tels que la composition de la lignine ou de l'hémicellulose, ces composés étant des précurseurs de ces arômes par dégradation thermique. Généralement, les aldéhydes furaniques ainsi que la vanilline et les whisky-lactones se retrouvent en concentrations plus fortes dans les vins élevés au contact de bois riches en polyphénols. Néanmoins, la chauffe et le type d'élevage (cuve, barrique) ainsi que le vin (IPT) jouent fortement sur les teneurs de ces composés dans le vin. De plus, le calibrage de l'appareil NIRS n'a pas été réalisé spécifiquement pour ces composés. C'est pourquoi, suivant les essais, les concentrations dans le vin de ces composés aromatiques ne sont pas systématiquement corrélées à l'IP des bois. Un travail dans le but de mieux corréler les teneurs en arômes des vins et l'IP des bois devrait donc être effectué. Aucun impact du grain sur les concentrations en arôme du vin n'a pu être clairement établi pour nos essais.

Cette étude a également montré l'existence d'impacts organoleptiques pour la classification des bois en fonction de leur indice polyphénolique (Tableau 46). Ainsi, l'augmentation de l'astringence et de l'amertume sont généralement corrélées significativement avec la classification NIRS des bois de chêne ( $p < 5\%$ ) (Tableau 46). En effet, l'augmentation des concentrations en ellagitanins qui sont reconnus pour participer à ces deux descripteurs [26-28], entraîne la modification de ces perceptions des vins en bouche. Au nez, l'intensité du boisé se traduit généralement par des augmentations de perceptions du fumé/grillé ou de l'épicé de façon significative avec celle de l'IP des barriques (Tableau 46).



Cette perception des vins comme plus boisée est liée à l'augmentation des concentrations en aldéhydes furaniques et aux effets synergiques qui existent entre eux. Cette augmentation des caractéristiques boisées des vins masque parfois une partie du fruité des vins [387] principalement pour le CS. L'augmentation de l'IP des bois est aussi corrélée avec celle de l'amplitude du vin blanc. Cette corrélation pourrait être le fruit d'une classification indirecte dans le bois de chêne, par Oakscan®, de composés comme le maltol [381], le cyclotène ou les quercotriterpénosides [127]. Néanmoins, le dosage de ces composés dans les bois classifiés ainsi que dans les vins sera nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

Tableau 46 : Synthèse des impacts de l'augmentation des IF du bois de chêne des barriques sur les caractéristiques organoléptiques des vins  
 les % correspondent à la différence de la moyenne des notes des dégustations entre les barriques ayant le plus faible et le plus fort IF

Appellations	Cépages/ Assemblages	Millésime	IP	Nombre de mois (d'élevage)	Chauffe (Nantes° max (°C))	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Vanille (nez)	Epice (nez)	Fumée/Grille (nez)	Fruité (bouche)	Amplinde (bouche)	Astringence (bouche)	Anerthme (bouche)
Malepère	CS / Merlot (50 / 50)	2008	13 : 50	60	80/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malepère	CS / Merlot (50 / 50)	2010	25 : 61	52,2	80/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malepère	CS / Merlot (50 / 50)	2010	25 : 61	66,1	80/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pessac - Léognan	CS	2009	21,39, 50,70	52,71	75/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pessac - Léognan	CS	2009	21,39, 50,70	52,71	75/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pessac - Léognan	CS	2009	21,39, 50,70	52,71	75/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pessac - Léognan	CS	2009	21,39, 50,70	52,71	75/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pessac - Léognan	CS	2009	21,39, 50,70	52,71	75/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pessac - Léognan	CS	2009	21,39, 50,70	52,71	75/280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pauillac	CS / Merlot (70 / 30)	2009	12,30,40	61,25	80//280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pauillac	CS / Merlot (70 / 30)	2009	12,30,40	61,25	80//280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pauillac	CS / Merlot (70 / 30)	2009	12,30,40	61,25	80//280	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Montagne St-Emillion	Merlot	2009	11,26,41	68,51	60/230	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Montagne St-Emillion	Merlot	2009	11,26,41	68,51	60/230	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Emillon	Merlot	2009	16,41	61,25	70/260	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Emillon	Merlot	2009	16,41	61,25	70/260	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	11,36, 53,67	65,43	70/260	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	11,36, 53,67	65,43	70/260	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Médoc	CS / Merlot / Petit Verdot (50/45/5)	2009	11,62	84	60/230	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saut-Foy- Bordeaux	Sauvignon blanc	2009	11,35,51	8	70/260	+	+	+	+	+	+	+	+	+

impact non significatif, p > 10%, p > 5%, p > 1%, p > 0,1%

Le grain des bois influence également les paramètres organoleptiques des vins (Tableau 47 **A**). En début d'élevage, les vins élevés au contact de bois ayant les grains les plus fins, sont jugés significativement plus amers et moins boisé et épicé que ceux élevés au contact de grains plus gros. A 12 mois d'élevage, l'astringence et d'amplitude des vins, élevés au contact des bois ayant le grain le plus fin, sont jugées comme plus importantes (Tableau 47 **A**). L'extraction des tanins du bois étant plus rapide quand le grain des bois augmente, leurs intégrations au vin seraient donc plus longue diminuant leurs astringences par transformation avec des composés du vin [156, 166, 168, 379, 380], l'éthanol et l'oxygène, alors que l'intégration des tanins du bois ayant un grain plus serré est moins rapide et demande un élevage plus long.

L'IPT des vins joue également un rôle sur les différences de perceptions dues à la classification des bois (Tableau 47 **B**). Ainsi, lors de l'augmentation de l'IP des bois, les augmentations de l'astringence et de l'intensité du boisé sont moins importantes et le fruité en bouche diminue moins pour un vin d'IPT 77 qu'avec un vin d'IPT 84 (Tableau 47 **B**). Ces phénomènes montrent un effet cumulatif entre l'astringence des tanins du bois [26-28] et celle des tanins du raisin [14, 17, 18]. Une amplitude plus forte est également observée pour les vins d'IPT faible. Dans ces derniers, les molécules du bois qui jouerait un rôle dans l'amplitude, seraient perçues plus facilement par une moindre richesse des autres molécules du vin. Cependant, des études complémentaires seront nécessaires pour en préciser les limites.

La chauffe joue également un rôle important sur l'apport tannique et aromatique des bois au vin. En effet, celle-ci, en fonction de son intensité, dégradera plus ou moins les ellagitanins d'un côté et la lignine et les hémicelluloses de l'autre, ce qui module à la fois l'astringence et l'amertume des vins mais aussi les composés aromatiques du bois. Une chauffe courte avec des températures faibles permet un apport tannique du bois plus important qui est accompagné d'une augmentation de l'amertume et de l'astringence, avec un apport aromatique du bois notamment sur le fumé/grillé plus faible. A contrario, une chauffe longue et forte apportera moins d'ellagitanins mais plus d'arôme boisé. Le contrôle de la chauffe et de la teneur des bois en polyphénols et plus précisément en ellagitanins, permettra donc d'apporter la quantité voulue de tanins du bois et/ou de composés aromatiques au vin.

Dans nos travaux, la modulation des qualités organoleptiques des vins par la classification est démontrée. Néanmoins, les apports de cette classification restent difficiles à prévoir, car ils sont influencés fortement par d'autres paramètres comme la chauffe des

barriques, l'épaisseur des douelles, le grain mais aussi le processus de vinification et l'IPT du vin. Néanmoins, cette classification des bois permet de constituer des lots de barriques homogènes dont l'apport tannique et aromatique au vin peut être prédit. Ainsi, un vin demandant un apport tannique et un boisé au nez important pourra préférentiellement être élevé dans des barriques avec de forts IP. La classification Oakscan® permet donc au maître de chai d'adapter plus finement les paramètres des barriques en fonction du produit final désiré.

Pour finir, l'analyse de la consommation de l'oxygène grâce à une méthode non invasive se basant sur la chimioluminescence d'un complexe du ruthénium placé en contact direct avec le vin a été réalisée. Pour cela, des barriques prototypes munies de huit « fenêtres » en verre blanc sont utilisées. Ainsi, l'élevage d'un vin rouge a montré l'influence de la nature des bois de chêne (richesse en polyphénols, grains) sur les teneurs en oxygène. La consommation de l'oxygène par le vin est plus rapide lorsque le vin est élevé dans une barrique dont les bois sont riches en polyphénols (respectivement de 575,66 ; 580,38 et 586,77  $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/ L de vin rouge.Jour pour les IP 18-GF, IP 41-GF et IP 61-GF). En accord avec les résultats obtenus sur les cinétiques d'extraction des ellagitanins, un vin élevé au contact de bois riche en ellagitanins sera lui-même plus riche en ellagitanins. Or, ces derniers sont des molécules antioxydantes [170] ce qui explique une consommation en oxygène dissous plus élevée lorsque le vin est riche en ellagitanins.

Le grain du bois de chêne, au travers des différences de vitesse d'extraction des ellagitanins, va également avoir un fort impact sur la vitesse de consommation de l'oxygène dissous des vins. Lorsque le grain du bois a une largeur de cerne supérieure à 3 mm (GM), la consommation d'oxygène dissous s'en trouve augmentée ( $v = 587,53$   $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour pour l'IP 41-GM contre 580,38 et 582,23  $\mu\text{g}$  d'oxygène dissous/L de vin rouge.Jour respectivement pour IP 41-GF et IP 41-GXF). Cela peut s'expliquer par une extraction des ellagitanins par le vin plus rapide en début d'élevage avec de « gros » grains. Néanmoins, le rôle direct des ellagitanins dans cet essai (cf chapitre 7) doit être confirmé par l'analyse des adduits formés par oxydation des ellagitanins (hémiacétals et acétals) [170].

## A

Appellations	Cépages/ Assemblages	Millésime	IP barriques	Grains bois	IPT vin	Nombres de mois d'élevage	Chauffe (Minutes/T° max (°C))	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Vanillé (nez)	Epicé (nez)	Fumé/Grillé (nez)	Fruité (bouche)	Amplitude (bouche)	Astringence (bouche)	Amertume (bouche)
Saint-Emilion	Merlot	2009	41	GXF, GF	61,25	6	75/280	→	→	→	→	→	→	→	↘ -33%	↘↘↘ -47%
Saint-Emilion	Merlot	2009	41	GXF, GF	61,25	12	75/280	→	→	→	→	→	↘↘ -14%	↘↘↘ -11%	→	→
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	36	GXF, GF, GMF	65,43	6	75/280	→	↗↗↗ +14%	↗ +42%	↗↗ +27%	→	→	→	→	→
Limoux	CS / Merlot / Syrah	2009	36	GXF, GF, GMF	65,43	12	75/280	→	→	↘↘ -20%	→	→	→	↘↘ -23%	↘↘ -16%	→

## B

Appellation	Assemblage	Millésime	IP barriques	IPT vins	Nombres de mois d'élevage	Chauffe (Temps/T°)	Intensité du fruité (nez)	Intensité du boisé (nez)	Vanillé (nez)	Epicé (nez)	Fumé/Grillé (nez)	Fruité (bouche)	Amplitude (bouche)	Astringence (bouche)	Amertume (bouche)
Médoc	CS / Merlot / Petit verdot (50/45/5)	2009	62	77,01 ; 84,01	6	60/230	→	↗↗ +11%	→	→	→	↘ -30%	→	↗↗↗ +26%	→

→ impact non significatif, ↗ p < 10%, ↗↗ p < 5%, ↗↗↗ p < 1%, ↗↗↗↗ p < 0,1%

Tableau 47 : Synthèse des impacts sur les caractéristiques organoleptiques des vins, **A** : de l'augmentation des grains du bois de chêne des barriques, **B** : de l'augmentation de l'IPT des vins

les % correspondent à la différence de la moyenne des notes des dégustations entre les barriques ayant le plus faible et le plus fort IP ; GMF : Grain Mi-Fin (largeur de cernes moyenne de 3 mm), GF : Grain Fin (largeur de cernes moyenne de 2 mm), GXF : Grain eXtra Fin (largeur de cernes < 1,5 mm)



## **Référence bibliographique**

1. Masson, G.; Puech, J. L.; Moutounet, M., Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bulletin O. I. V.* **1996**, *69*, 634-657.
2. Doty, R. L., Gustation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science* **2012**, *3*, 29-46.
3. Sarni-Manchado, P.; Cheynier, V., *Les polyphénols en agroalimentaire*. Lavoisier: Paris, 2006; p 398.
4. Cotoras, M.; Garcia, C.; Lagos, C.; Folch, C.; Mendoza, L., Antifungal activity on *Botrytis cinerea* of flavonoids and diterpenoids isolated from the surface of *pseudognaphalium* SPP. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* **2001**, *46*, 433-440.
5. Prasad, K. N.; Yang, B.; Dong, X.; Jiang, G.; Zhang, H.; Xie, H.; Jiang, Y., Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **2009**, *10*.
6. Wang, C. Y.; Chen, C. T.; Wang, S. Y., Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry* **2009**, *117*, 426-431.
7. Cooper-Driver, G. A., Role of Phenolics in Plant Evolution. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1165-1174.
8. Harborne, J. B.; Williams, C. A., Advances in Flavonoid Research since 1992. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 481-504.
9. Brouillard, R.; Dubois, J.-E., Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acidic media. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99*, 1359-1364.
10. Glories, Y. La matière colorante du vin rouge. Thèse d'Etat, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 1978.
11. Somers, T., The Polymeric Nature of Wine Pigments. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2175-2186.
12. Timberlake, C. F.; Bridle, P., Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. **1976**, *27*, 97-105.
13. Glories, Y., La couleur des vins rouges. II Mesure, origine, et interprétation. *Connaissance de la vigne et du vin* **1984**, *18*, 253-271.
14. Rossi, J. A., Jr.; Singleton, V. L., Flavor effects and adsorptive properties of purified fractions of grape-seed phenols. *American Journal of Enology and Viticulture* **1966**, *17*, 240-246.
15. Lea, A. G. H.; Arnold, G. M., The phenolics of ciders: Bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1978**, *29*, 478-483.



16. Robichaud, J. L.; Noble, A. C., Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1990**, *53*, 343-353.
17. Thorngate III, J. H.; Noble, A. C., Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3R (-)-epicatechin and 3S(+)-catechin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1995**, *67*, 531-535.
18. Kallithraka, S.; Bakker, J.; Clifford, M. N., Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution. *Journal of Sensory Studies* **1997**, *12*, 25-37.
19. Peleg, H.; Gacon, K.; Schlich, P.; Noble, A. C., Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1999**, *79*, 1123-1128.
20. Noble, A. C., Application of Time-Intensity Procedures for the Evaluation of Taste and Mouthfeel. *American Journal of Enology and Viticulture* **1995**, *46*, 128-133.
21. Guinard, J.-X.; Pangborn, R. M.; Lewis, M. J., Preliminary studies on acidity-astringency interactions in model solutions and wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1986a**, *37*, 811-817.
22. Lea, A. G. H., Flavor, color and stability in fruit products : the effect of polyphenols. In *Plant Polyphenols*, Press, P., Ed. Hemingway, R. W., Laks, P. E.: New York, 1992; pp 827-837.
23. Singleton, V. L.; Noble, A. C., Wine flavor and phenolic substances. In *Phenolic, sulfur and nitrogen compounds in food flavors*, Society, A. C., Ed. Charalambous, G., Katz, I.: Washington DC, 1976; pp 47-70.
24. Delcour, J. A.; Vandenberghe, M. M.; Corten, P. F.; Dondeyne, P., Flavor thresholds of polyphenolics in water. *American Journal of Enology and Viticulture* **1984**, *35*, 134-136.
25. Fontoin, F.; Saucier, C.; Teissedre, P. L.; Glories, Y., Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin. *Food Quality and Preference* **2008**, *19*, 286-291.
26. Glabasnia, A.; Hofmann, T., Sensory-directed identification of taste-active ellagitannins in American (*Quercus alba* L.) and European oak wood (*Quercus robur* L.) and quantitative analysis in bourbon whiskey and oak-matured red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 3380-3390.
27. Glabasnia, A.; Hofmann, T., Identification and sensory evaluation of dehydro- and deoxy-ellagitannins formed upon toasting of oak wood (*Quercus alba* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 4109-4118.
28. Stark, T.; Wollmann, N.; Wenker, K.; Lösch, S.; Glabasnia, A.; Hofmann, T., Matrix-calibrated LC-MS/MS quantitation and sensory evaluation of oak ellagitannins and their

- transformation products in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, *58*, 6360-6369.
29. Hengst, J. A.; Yun, J. K., Sphingosine kinase: A key to solving the 'French Paradox'? *British Journal of Pharmacology* **2012**, *166*, 1603-1604.
30. Ellison, R. C., The French Paradox: 20 Years Later. *Journal of Wine Research* **2011**, *22*, 105-108.
31. Renaud, S. C.; Guéguen, R.; Siest, G.; Salamon, R., Wine, beer, and mortality in middle-aged men from Eastern France. *Archives of Internal Medicine* **1999**, *159*, 1865-1870.
32. Frankel, E. N.; Kanner, J.; German, J. B.; Parks, E.; Kinsella, J. E., Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* **1993**, *341*, 454-457.
33. Teissedre, P. L.; Frankel, E. N.; Waterhouse, A. L.; Peleg, H.; Bruce German, J., Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1996**, *70*, 55-61.
34. Teissedre, P. L.; Landrault, N., Wine phenolics: Contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Research International* **2000**, *33*, 461-467.
35. Rouanet, J. M.; Teissédre, P. L., Effects of Wine Consumption on Cardiovascular Diseases. *Journal of Wine Research* **2011**, *22*, 159-163.
36. Qian, Y.; Agne, A.; Chira, K.; Teissédre, P. L.; Décordé, K.; Ventura, E.; Cristol, J. P.; Rouanet, J. M., A moderate consumption of Côtes du Rhône red wines affects the progression of aortic lesions, and reduces oxidative stress and p22 phoxNADPH oxidase activation in an experimental model of diet-induced atherosclerosis, according to the vinification process. *European Food Research and Technology* **2009**, *229*, 485-493.
37. Suh, J. H.; Virsolvy, A.; Goux, A.; Cassan, C.; Richard, S.; Cristol, J. P.; Teissédre, P. L.; Rouanet, J. M., Polyphenols prevent lipid abnormalities and arterial dysfunction in hamsters on a high-fat diet: A comparative study of red grape and white persimmon wines. *Food and Function* **2011**, *2*, 555-561.
38. Orgogozo, J. M.; Dartigues, J. F.; Lafont, S.; Letenneur, L.; Commenges, D.; Salamon, R.; Renaud, S.; Breteler, M. B., Wine consumption and dementia in the elderly: A prospective community study in the Bordeaux area. *Revue Neurologique* **1997**, *153*, 185-192.
39. Lule, S.; Xia, W., Food phenolics, pros and cons: A review. *Food Reviews International* **2005**, *21*, 367-388.
40. Teissedre, P. L., Wine and health. In *Biochemistry of the grape berry*, Betham, M.-.-.-.-. Ed. Sharjah, USA, 2011; pp 1-10.
41. Teissedre, P. L., The effects of wine on health [Les effets du vin sur la santé]. *Biofutur* **2008**, *294*, 45-48.

42. Teissedre, P. L., Effets physiologiques possibles d'une consommation modérée de vin pour diverses pathologies chroniques de l'homme : Athérosclérose, diabète, hypertension, cancer. *Revue Française d'Œnologie* **2007**, *225*, 20-31.
43. Décordé, K.; Teissède, P. L.; Sutra, T.; Ventura, E.; Cristol, J. P.; Rouanet, J. M., Chardonnay grape seed procyanidin extract supplementation prevents high-fat diet-induced obesity in hamsters by improving adipokine imbalance and oxidative stress markers. *Molecular Nutrition and Food Research* **2009**, *53*, 659-666.
44. Landete, J. M., Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International* **2011**, *44*, 1150-1160.
45. Quideau, S.; Jourdes, M.; Lefeuvre, D.; Pardon, P.; Saucier, C.; Teissedre, P.-L.; Glories, Y., Ellagitannins - An underestimated class of bioactive plant polyphenols: chemical reactivity of C-glucosidic ellagitannins in relation to wine chemistry and biological activity. In *Recent advances in polyphenol research*, Santos-Buelga, C.; Escribano-Bailon, T.; Lattanzio, V., Eds. Blackwell Publishing Ltd: Singapore, 2010; Vol. 2, pp 81-137.
46. Bedoya, L. M.; Abad, M. J.; Sanchez-Palomino, S.; Alcamí, J.; Bermejo, P., Ellagitannins from *Tuberaria lignosa* as entry inhibitors of HIV. *Phytomedicine* **2010**, *17*, 69-74.
47. Okuda, T., Systematic and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2012-2031.
48. Ricardo Da Silva, J. M.; Darmon, N.; Fernandez, Y.; Mitjavila, S., Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*® **1991**, *39*, 1549-1552.
49. Aruoma, O. I.; Murcia, A.; Butler, J.; Halliwell, B., Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1993**, *41*, 1880-1885.
50. Gronbaek, M.; Deis, A.; Sorensen, T. I. A.; Becker, U.; Schnohr, P.; Jensen, G., Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *British Medical Journal* **1995**, *310*, 1165-1169.
51. Spranger, I.; Sun, B.; Mateus, A. M.; Freitas, V. d.; Ricardo-da-Silva, J. M., Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. *Food Chemistry* **2008**, *108*, 519-532.
52. Fernandes, A.; Fernandes, I.; Cruz, L.; Mateus, N.; Cabral, M.; De Freitas, V., Antioxidant and biological properties of bioactive phenolic compounds from *Quercus suber* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, *57*, 11154-11160.

53. Romani, A.; Campo, M.; Pinelli, P., HPLC/DAD/ESI-MS analyses and anti-radical activity of hydrolyzable tannins from different vegetal species. *Food Chemistry* **2012**, *130*, 214-221.
54. Dangles, D.; Dufour, C., Flavonoid - protein interactions. In *Flavonoids : chemistry, biochemistry and applications*, Andersen, O.; Markham, K., Eds. CRC Press: Boca Raton, 2006; pp 443-469.
55. Dangles, D.; Dufour, C., Flavonoid-protein binding processes and their potential impact on human health. In *Recent Advances in Polyphenol Research*, Lattanzio, V.; Daayf, F., Eds. Blackwell: London, 2008; pp 67-87.
56. Wang, L.; Tu, Y.; Lian, T.; Hung, J.; Yen, J.; Wu, M., Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 9798-9804.
57. Jovanovic, S. V.; Steenken, S.; Hara, Y.; Simic, M. G., Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity? *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 2* **1996**, 2497-2504.
58. Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J., Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* **2002**, *13*, 572-584.
59. Kumamoto, M.; Sonda, T.; Nagayama, K.; Tabata, M., Effects on pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2001**, *65*, 126-132.
60. McDonald, M.; Mila, I.; Scalbert, A., Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal conditions and origin of precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, *44*, 599-606.
61. Fukumoto, L. R.; Mazza, G., Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48*, 3597-3604.
62. Amasheh, M.; Schlichter, S.; Amasheh, J.; Mankertz, J.; Zeitz, M.; Fromm, M.; Schulzke, J. D., Quercetin enhances epithelial barrier function and increases claudin-4 expression in Caco-2 cells. *Journal of Nutrition* **2008**, *138*, 1067-1073.
63. Moreira, A. J.; Fraga, C.; Alonso, M.; Collado, P. S.; Zetler, C.; Marroni, C.; Marroni, N.; González-Gallego, J., Quercetin prevents oxidative stress and NF- $\kappa$ B activation in gastric mucosa of portal hypertensive rats. *Biochemical Pharmacology* **2004**, *68*, 1939-1946.
64. Boots, A. W.; Haenen, G. R. M. M.; Bast, A., Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology* **2008**, *585*, 325-337.

65. Kris-Etherton, P. M.; Hecker, K. D.; Bonanome, A.; Coval, S. M.; Binkoski, A. E.; Hilpert, K. F.; Griel, A. E.; Etherton, T. D., Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine* **2002**, *113*, 71S-88S.
66. Scalbert, A.; Manach, C.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L., Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2005**, *45*, 287-306.
67. Hollman, P. C. H.; Katan, M. B., Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology* **1999**, *37*, 937-942.
68. Knekt, P.; Kumpulainen, J.; Järvinen, R.; Rissanen, H.; Heliövaara, M.; Reunanen, A.; Hakulinen, T.; Aromaa, A., Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition* **2002**, *76*, 560-568.
69. Natella, F.; Belevi, F.; Gentili, V.; Ursini, F.; Scaccini, C., Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 7720-7725.
70. Natella, F.; Ghiselli, A.; Guidi, A.; Ursini, F.; Scaccini, C., Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. *Free Radical Biology and Medicine* **2001**, *30*, 1036-1044.
71. Jourdes, M. Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins C-glycosidiques et flavano-ellagitannins. Université Bordeaux I, Bordeaux, 2003.
72. Larchiver, M., *Vins, vignes et vigneron - Histoire du vignoble français*. Paris, 1988; Vol. 714.
73. Enjalbert, H., *Le vin de Bordeaux et du haut-pays*. Montalba: Paris, 1977; p 284.
74. Jonhson, H., *Une histoire mondiale du vin de l'antiquité à nos jours*. Hachette: Paris, 1990; p 478.
75. Vivas, N., Une brève histoire de la tonnellerie. In *Manuel de Tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*, Féret, Ed. 2002; pp 37-42.
76. Arramon, G. Les triterpènes et lignanes des bois de chêne Européen *Quercus robur* L. et *Quercus petraea* Liebl. Quantification et apports qualitatifs aux eaux de vie d'armagnac. Doctorant, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 2001.
77. Keller, R., Les chênes dans le monde. Les chênes de tonnellerie en France : *Quercus petraea* et *Quercus robur*. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **1992**, *1*-38.
78. Camus, A., *Les chênes. Monographie du genre Quercus*. Paris, 1936; p 686.
79. Chatonnet, P. Incidences du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins. Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 1991.

80. Rol, R., Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux. In *Tome I, Plaines et collines*, La maison rustique: Paris, 1962; p 95.
81. Jacamon, M., Guide de dendrologie. In *Tome II, Feuillus*, E.N.G.R.E.F.: Nancy, 1984.
82. Keller, R., Différentes variétés de chêne et leur répartition dans le monde. *Connaissance de la vigne et du vin* **1987**, 21, 191-229.
83. Deret-Varcin, E., Etude comparative de la qualité de trois types de chênes (rouvres, pédonculés et intermédiaires) en forêt de Morimond. *Annals of Forest Science* **1983**, 40, 54-57.
84. Graff, R. H.; Tchelistcheff, A., La production et le vieillissement du vin dans la petite futaille de chêne. *Wines Vines* **1969**, 1, 13.
85. Venet, J., Identification et classement des bois Français. In Keller, R., Ed. ENGREF: Nancy, 1986; Vol. 2.
86. Vivas, N., Chapitre III - Le chêne, un arbre noble et complexe. In *Manuel de Tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*, Féret, Ed. Bordeaux, 2002; pp 43-130.
87. Lacroix, J.-P., *Bois de tonnellerie: De la forêt à la vigne et au vin*. Gerfaut ed.; Aix-en-Provence, 2006; Vol. 3, p 155.
88. Keller, R., Les chênes dans le monde. Les chênes de tonnellerie en France : *Quercus petraea* et *Quercus robur*. *Connaissance Vigne Vin - Numéro spécial* **1992**, 7-28.
89. Chatonnet, P. Influence des procédés de tonnellerie et des techniques d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en futs de chêne. Université de Bordeaux, Bordeaux, 1995.
90. Vivas, N., Chapitre IV - Le bois : une matière première précieuse. In *Manuel de Tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*, Féret, Ed. Bordeaux, 2002; pp 131-168.
91. Chatonnet, P.; Fleury, A.; Boutou, S., Identification of a new source of contamination of quercus sp. Oak Wood by 2,4,6-trichloroanisole and its impact on the contamination of barrel-aged wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, 58, 10528-10538.
92. Chatonnet, P.; Fleury, A.; Boutou, S., Origin and incidence of 2-methoxy-3,5-dimethylpyrazine, a compound with a "fungal" and "corky" aroma found in cork stoppers and oak chips in contact with wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, 58, 12481-12490.
93. Chatonnet, P.; Dubourdieu, D., Identification of substances responsible for the 'sawdust' aroma in oak wood. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1998**, 76, 179-188.
94. Hodin, F.; Boren, H.; Grimvall, A.; Karlsson, S., Formation of chlorophenols and related compounds in natural technical chlorination processes. *Water Science and Technology* **1991**, 24, 403-410.

95. Chatonnet, P.; Boidron, J. N.; Dubourdiou, D., Nature et évolution de la microflore du bois de chêne au cours de son séchage et de son vieillissement à l'air libre. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **1994**, *28*, 185-201.
96. Josephe, E.; Marché, M., Contribution à l'étude du vieillissement du cognac. Identification de la scopolétine, de l'aesculétine, de l'ombelliférone, de la  $\beta$ -methyl-ombelliférone, de l'aesculine et de la scopoline, hétérosides provenant du bois. *Connaissance de la vigne et du vin* **1972**, 273-330.
97. Vivas, N., *Le séchage naturel du bois de chêne destiné à la fabrication de barriques*. Arnay-le-duc, 1993.
98. Pontallier, P. Recherches sur les conditions d'élevage des vins rouges. Role des phénomènes oxydatifs. Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 1981.
99. Pontallier, P.; Salagoity, M. H.; Riberau-Gayon, P., Intervention du bois de chêne dans l'évolution des vins rouges élevés en barriques. *Connaissance Vigne Vin* **1982**, *16*, 45-61.
100. Seikel, M. K.; Hostettler, F. D.; Niemann, G. J., Phenolics of *Quercus rubra* wood. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2249-2251.
101. Robert, D.; Chen, C. L., Biodegradation of lignins in spruce wood by *Phanerochaete chrysosporium* : Quantitative analysis of biodegraded spruce lignins by  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. *Holzforschung* **1989**, *43*, 323-332.
102. Monties, B., Composition chimique des bois de chêne : composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. In *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*, Guimberteau, G., Ed. Vigne et vin publications internationales: Martillac, 1992; pp 59-72.
103. Otsuka, K.; Sato, K.; Kawamatsu, M., Purification and properties of a precursor of  $\beta$ -methyl- $\gamma$ -octalactone, an aging compound of distilled liquors. *Hakkokogaku* **1980**, *58*, 309-375.
104. Taransaud, J., *Le livre de la tonnellerie*. Paris, 1976.
105. Giordano, G., Caratteristiche fisiche et meccaniche del legno. In *Tecnologia del legno. volume 1*, (UTET), U. T.-E. T., Ed. Turin, 1971; Vol. 1.
106. Vivas, N., Chapitre V - Travail et traitement du bois en tonnellerie. In *Manuel de Tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*, Féret, Ed. Bordeaux, 2002; pp 169-179.
107. Monties, B., Les lignines. In *Les polymères végétaux. Polymères pariétaux et alimentaires non azotés*, Bordas, Ed. Monties,B.: Paris, 1980; pp 122-155.
108. Cadahía, E.; Varea, S.; Muñoz, L.; Fernández de Simón, B.; García-Vallejo, M. C., Evolution of ellagitannins in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 3677-3684.

109. Giordanengo, T.; Charpentier, J. P.; Boizot, N.; Roussel, S.; Roger, J. M.; Chaix, G.; Robin, C.; Mourey, N., OAKSCAN™ : Procédé de mesure rapide et non destructif des polyphénols du bois de chêne de tonnellerie. *Revue Française d'œnologie* **2009**, *234*, 10-15.
110. Tollier, M. T.; Riquet, A. M., Dosage des polyosides. In *Les polymères végétaux. Polymères pariétaux et alimentaire non azotés*, Gauthier-Villards, Ed. Monties, B.: Paris, 1980; pp 156-175.
111. Filliatre, C., Du bois au papier. In *La chimie du pin et du vin: du végétal à la table à travers les processus naturels ou les procédés industriels*, physiciens, U. d., Ed. Bordeaux, 1994.
112. Fengel, D.; Wegener, G., *Wood: Chemistry, Ultrastructure Reaction*. 1984; p 319-344.
113. Jouin, D.; Tollier, M. T., Lignification of Oak Wood. Lignin Determination in Sapwood and Heartwood. *Cellulose Chemistry and Technology* **1988**, *22*, 231-243.
114. Monties, B., Composition Chimique des Bois de Chêne: Composés Phénoliques, Relation avec quelques Propriétés Physiques et Chimiques Susceptibles d'Influencer la Qualités des Vins et des Eaux-de -Vie. *Connaissance Vigne Vin* **1987**, *21*, 169-190.
115. Puech, J. L., Influence du Bois de Chêne sur les Caractéristiques Analytiques des Eaux-de-Vie. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **1992**, *Hors série*, 123-134.
116. Michel, J.; Jourdes, M.; A. Silva, M.; Giordanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, P.-L., Impact of Concentration of Ellagitannins in Oak Wood on Their Levels and Organoleptic Influence in Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59*, 5677-5683.
117. Sarni, F.; Rabier, P.; Moutounet, M., Fabrication des barriques et thermotraitements; rrelevé des températures. *Revue Française d'œnologie* **1990**, *123*, 53-58.
118. Pearl, I. A., *The chemistry of lignin*. New York, 1967; p 339.
119. Nabeta, K.; Yonekubo, J.; Miyake, M., Analysis of Volatile Constituents of European and Japanese Oaks. *Mokuzai Gakkaishi* **1986**, *33*, 408-415.
120. Black, R. A.; Rosen, A. A.; Adams, S. L., The chromatographic separation of hardwood extractive components giving color reactions with phloroglucinol. *Journal of the American Chemical Society* **1953**, *75*, 5344-5346.
121. Pearl, I. A.; Darling, S. F., Reactions of vanillin and its derived compounds. XXVIII. Coniferaldehyde and p-coumaraldehyde. *Journal of Organic Chemistry* **1957**, *22*, 1266-1267.
122. Monties, B.; Mestres, C.; Baghdadi, K., Chemical and physical properties of a brittle culm lignin rich mutant of rice. In *International Symposium on Wood and Pulping Chemistry*, Grignon, I. P., Ed. Stockholm, 1981.
123. Puech, J. L., Characteristics of oak wood and biochemical aspect of Armagnac ageing. *American Journal of Enology and Viticulture* **1984**, *35*, 77-81.



124. Chen, C. L., Constituents of *Quercus alba*. *Phytochemistry* **1970**, *9*, 1149.
125. Scalbert, A.; Monties, B.; Dupouey, J. L.; Becker, M., Polyphénols extractibles du bois de chêne : variabilité interspécifique, interindividuelle et effet de la duraminisation. *Bulletin de Liaison du groupe polyphenol* **1986**, *13*, 617-619.
126. Puech, J. L., Extraction and evolution of lignin products in Armagnac matured in oak. *American Journal of Enology and Viticulture* **1981**, *32*, 111-114.
127. Marchal, A.; Waffo-Téguo, P.; Génin, E.; Mérillon, J. M.; Dubourdieu, D., Identification of new natural sweet compounds in wine using centrifugal partition chromatography-gustatometry and Fourier transform mass spectrometry. *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 9629-9637.
128. Haslam, E.; Cai, Y., Plant polyphenols (vegetable tannins): Gallic acid metabolism. *Nat. Prod. Rep.* **1994**, *11*, 41-66.
129. Quideau, S.; Feldman, K. S., Ellagitannin chemistry. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 475-503.
130. Khanbabaee, K.; van Ree, T., Tannins: classification and definition. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 641-649.
131. Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T., Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry* **1993**, *32*, 507-521.
132. Prida, A.; Boulet, J. C.; Ducouso, A.; Nepveu, G.; Puech, J. L., Effect of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even-aged and mixed stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl. *Annals of Forest Science* **2006**, *63*, 415-424.
133. Mayer, W.; Gabler, W.; Riester, A.; Korger, H., Über die gerbstoffe aus dem holz der edelkastanie und der eiche, II. Die isolierung von castalagin, vescalagin, castalin und vescalin. *Liebigs Ann. Chem.* **1967**, *707*, 177-181.
134. Mayer, W.; Seitz, H.; Jochims, J. C.; Schauerte, K.; Schilling, G., Über die gerbstoffe aus dem holz der edelkastanie und der eiche, VI. Struktur des vescalagins. *Liebigs Ann. Chem.* **1971**, *751*, 60-68.
135. Mayer, W.; Seitz, H.; Jochims, J. C., Über die gerbstoffe aus dem holz der edelkastanie und der eiche, IV. Die struktur des castalagins. *Liebigs Ann. Chem.* **1969**, *721*, 186-193.
136. Herve du Penhoat, C. L. M.; Michon, V. M. F.; Ohassan, A.; Peng, S.; Scalbert, A.; Gage, D., Roburine A, a dimeric ellagitannin from heartwood of *Quercus robur*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 329-332.
137. Herve du Penhoat, C. L. M.; Michon, V. M. F.; Peng, S.; Viriot, C.; Scalbert, A.; Gage, D., Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. roburins A-E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1991**, 1653-1660.

138. Fernández de Simón, B.; Cadahía, E.; Conde, E.; García-Vallejo, M. C., Ellagitannins in woods of Spanish, French and American oaks. *Holzforschung* **1999**, *53*, 147-150.
139. Masson, G.; Moutounet, M.; Puech, J. L., Ellagitannin content of oak wood as a function of species and of sampling position in the tree. *Am. J. Enol. Vitic.* **1995**, *46*, 262-268.
140. Masson, G.; Puech, J.-L.; Moutounet, M., Localization of the ellagitannins in the tissues of *Quercus robur* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1245-1249.
141. Niemetz, R.; Gross, G. G., Gallotannin biosynthesis: purification of  $\beta$ -glucogallin: 1,2,3,4,6- pentagalloyl- $\beta$ -D-glucose galloyltransferase from sumac leaves. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 327-332.
142. Grundhöfer, P.; Niemetz, R.; Schilling, G.; Gross, G. G., Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 915-927.
143. Niemetz, R.; Gross, G. G., Oxidation of pentagalloylglucose to the ellagitannin, tellimagrandin II, by a phenol oxidase from *Tellima grandiflora* leaves. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 301-306.
144. Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T.; Yazaki, K.; Ashida, M., Ellagitannins of the Casuarinaceae, Stachyuraceae and Myrtaceae. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2871-2874.
145. Hatano, T.; Kira, R.; Yoshizaki, M.; Okuda, T., Seasonal changes in the tannins of *Liquidambar formosana* reflecting their biogenesis. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 2787-2789.
146. Masson, G.; Puech, J. L.; Moutounet, M., Localization of the ellagitannins in the tissues of *Quercus robur* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1245-1249.
147. Mosedale, J. R.; Puech, J.-L.; Feuillat, F., The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *Am. J. Enol. Vitic.* **1999**, *50*, 503-512.
148. Masson, G.; Puech, J. L.; Moutounet, M., Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *Bull. O. I. V.* **1996**, *69*, 634-657.
149. Doussot, F.; De Jéso, B.; Quideau, S.; Pardon, P., Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting: Influence of tree species, geographic location, and single-tree effects. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5955-5961.
150. Masson, G.; Moutounet, M.; Puech, J. L., Ellagitannin content of oak wood as a function of species and of sampling position in the tree. *American Journal of Enology and Viticulture* **1995**, *46*, 262-268.
151. Doussot, F.; De Jéso, B.; Quideau, S.; Pardon, P., Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting; influence of tree species, geographic location, and single-tree effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 5955-5961.
152. Cousens, J. E., The status of the pedunculate and sessile oak in Britain. *Watsonia* **1965**, *6*, 161-176.

153. Walker, F. S., Pedunculate and sessile oaks : Species determination from differences in their wood. In *Dendrochronology in Europe*, Reports, B. A., Ed. Fletcher, J.: 1978; pp 329-338.
154. Fletcher, J., Dating the geographical migration of *Quercus petraea* and *Quercus robur* in holocene times. *Tree-ring Bulletin* **1978**, *38*, 45-47.
155. Feuillat, F.; Keller, R., Variability of Oak Wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.) Anatomy Relating to Cask Properties. *American Journal of Enology and Viticulture* **1997**, *48*, 502-508.
156. Jourdes, M.; Michel, J.; Saucier, C.; Quideau, S.; Teissedre, P. L., Identification, amounts, and kinetics of extraction of C-glucosidic ellagitannins during wine aging in oak barrels or in stainless steel tanks with oak chips. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2011**, *401*, 1535-1543.
157. Moutounet, M.; Rabier, P.; Puech, J. L.; Verette, E.; Barillère, J. M., Analysis by HPLC of extractible substances in oak wood. Application to a Chardonnay wine. *Sciences des Aliments* **1989**, *9*, 35-51.
158. Moutounet, M.; Rabier, P.; Sarni, F.; Scalbert, A., Les Tannins du Bois de Chêne. Les Conditions de leur Présence dans les Vins. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **1992**, *Hors sérei*, 75-79.
159. Hatano, T.; Han, L.; Taniguchi, S.; Shingu, T.; Okuda, T.; Yoshida, T., Tannins and related polyphenols of Theaceous plants. VIII. Camelliatannins C and E, new complex tannins from *Camellia japonica* leaves. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1995**, *43*, 1629-1633.
160. Okuda, T.; Yoshida, T.; Ashida, M.; Yazaki, K., Tannins of *casuarina* and *stachyurus* species. Part 1. Structure of pendunculagin, casuarictin, strictinin, casuarinin, casuariin and stachyurin. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 1* **1983**, 1765-1772.
161. Nonaka, G.-I.; Nishimura, H.; Nishioka, I., Tannins and related compounds. Part 26. Isolation and structure of stenophyllanins A, B and C novel tannins from *Quercus stenophylla*. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 1* **1985**, 163-172.
162. Ishimaru, K.; Nonaka, G.-I.; Nishioka, I., Tannins and related compounds. LV. Isolation and characterisation of acutissimins A and B, novel tannins from *Quercus* and *Castanea* species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1987**, *35*, 602-610.
163. Ishimaru, K.; Ishimatsu, M.; Nonaka, G.-I.; Mihashi, K.; Iwase, Y.; Nishioka, I., Tannins and related compounds. LXXII. Isolation and characterization of mongolicanin(procyanidino-ellagitannin), mongolinin A, acutissimin C and vescalagin carboxylic acid, novel tannins from *Quercus mongolica* var. *grosserrata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1988**, *36*, 3319-3327.

164. König, M.; Scholz, E., Ellagitannins and complex tannins from *Quercus petraea* bark. *Journal of Natural Products* **1994**, *57*, 1411-1415.
165. Lampire, O.; Mila, I.; Raminosoa, M.; Hervé Du Penhoat, H.; Faucher, N.; Laprevote, O.; Scalbert, A., Polyphenols Isolated from the Bark of *Castanea sativa* Mill. Chemical Structure and Auto-Association. *Phytochemistry* **1998**, *57*, 623-631.
166. Quideau, S.; Jourdes, M.; Lefeuvre, D.; Montaudon, D.; Saucier, C.; Glories, Y.; Pardon, P.; Pourquier, P., The chemistry of wine polyphenolic C-glycosidic ellagitannins targeting human topoisomerase II. *Chemistry - A European Journal* **2005**, *11*, 6503-6513.
167. Saucier, C.; Jourdes, M.; Glories, Y.; Quideau, S., Extraction, detection, and quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a Bordeaux red wine aged in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 7349-7354.
168. Chassaing, S.; Lefeuvre, D.; Jacquet, R.; Jourdes, M.; Ducasse, L.; Galland, S.; Grelard, A.; Saucier, C.; Teissedre, P.-L.; Dangles, O.; Quideau, S., Physicochemical studies of new anthocyano-ellagitannin hybrid pigments: About the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *European Journal of Organic Chemistry* **2010**, 55-63.
169. Moutounet, M.; Rabier, P.; sarni, F.; Scalbert, A., Les tanins du bois de chêne. Les conditions de leur présence dans les vins. In *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*, Guimberteau, G., Ed. Vigne et Vin Publications Internationales: Martillac, 1992; pp 75-79.
170. Puech, J.-L.; Mertz, C.; Michon, V.; Le Guerneve, C.; Doco, T.; Du Penhoat, C., Evolution of castalagin and vescalagin in ethanol solutions. Identification of new derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1999**, *47*, 2060-2066.
171. Peng, S.; Scalbert, A.; Monties, B., Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 775-778.
172. Bravo, L., Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* **1998**, *56*, 317-333.
173. Crozier, A.; Jaganath, I. B.; Clifford, M. N., Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports* **2009**, *26*, 1001-1043.
174. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L., Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* **2004**, *79*, 727-747.
175. Teissedre, P. L., Oxygen and phenolic compounds: From the barrel to the chips. *Oxygène et composés phénoliques: De la barrique aux copeaux* **2008**, 40-43.
176. Galvin, C. Etude de certaines réactions de dégradation des anthocyanes et de leur condensation avec les flavanols; Conséquences sur la couleur des vins. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 1993.

177. Castillo-Sánchez, J. J.; Mejuto, J. C.; Garrido, J.; García-Falcón, S., Influence of wine-making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin content, colour and general organoleptic quality of Vinhão wines. *Food Chemistry* **2006**, *97*, 130-136.
178. Chira, K. Structures Moléculaires et Perception Tannique des Raisins et des Vins (Cabernet-Sauvignon, Merlot) du Bordelais. Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 2009.
179. Ribéreau-Gayon, J., Les acides phénols de *Vitis vinifera* C. R. *Académie des Sciences* **1963**, *256*, 4108-4111.
180. Weidner, S.; Amarowicz, R.; Karamac, M.; Fraczek, E., Changes in endogenous phenolic acids during development of secale cereale caryopses and after dehydration treatment of unripe rye grains. *Plant Physiology and Biochemistry* **2000**, *38*, 595-602.
181. Cheynier, V.; Basire, N.; Rigaud, J., Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1989**, *37*, 1069-1071.
182. Cheynier, V.; Rigaud, J.; Souquet, J. M.; Barillere, J. M.; Moutounet, M., Effect of pomace contact and hyperoxidation on the phenolic composition and quality of Grenache and Chardonnay wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. **1989**, *40*, 36-42.
183. Chira, K.; Suh, J. H.; Saucier, C.; Teissedre, P. L., Les polyphénols du raisin. *Phytotherapie* **2008**, *6*, 75-82.
184. Ribeiro de Lima, M. T.; Waffo-Teguo, P.; Teissedre, P. L.; Pujolas, A.; Vercauteren, J.; Cabanis, J. C.; Merillon, J. M., Determination of stilbenes (*trans*-astringin, *cis*- and transpiceid, and *cis*- and *trans*-resveratrol) in portuguese wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1999**, *47*, 2666-2670.
185. Jeandet, P.; Bessis, R.; Gautheron, B., The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*. **1991**, *42*, 41-46.
186. Vitrac, X.; Bornet, A.; Vanderlinde, R.; Valls, J.; Richard, T.; Delaunay, J.-C.; Merillon, J.-M.; Teissèdre, P.-L., Determination of stilbenes ( $\delta$ -viniferin, *trans*-astringin, *trans*-piceid, *cis* and *trans*-resveratrol,  $\alpha$ -viniferin) in Brazilian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 5664-5669.
187. Guebailia, H. A.; Chira, K.; Richard, T.; Mabrouk, T.; Furiga, A.; Vitrac, X.; Monti, J.-P.; Delaunay, J.-C.; Merillon, J.-M., Hopeaphenol: the first resveratrol tetramer in wines from North Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 9559-9564.
188. Ribéreau-Gayon, J., *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod ed: Paris, 1968.
189. Bate-Smith, E. C.; Swain, T., Recent developments in the chemotaxonomy of flavonoid compounds. *Lloydia* **1965**, *28*, 313-331.
190. Haslam, E., Polyphenol-Protein Interaction. *Biochemical Journal* **1974**, *139*, 285-288.

191. Haslam, E., The Association of Proteins with Polyphenols. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1981**, 309-311.
192. McManus, J. P.; Davis, K. G.; Beart, J. E.; Gaffney, S.; Lilley, T. H.; Haslam, E., Polyphenol Interactions. Part1. Introduction; Some Observation on the Reversible Complexation of Polyphenols with Proteins and Polysaccharides. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 2* **1985**, 1429-1438.
193. Riou, V.; Vernhet, A.; Doco, T.; Moutounet, M., Aggregation of grape seed tannins in model wine: effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloids* **2002**, *16*, 17-23.
194. Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D., *Traité d'oenologie 2. Chimie du vin Stabilisation et traitements*. Ed. Dunod: Paris, 1998.
195. Hemingway, R.; Foo, L. Y.; Porter, L. J., Linkage Isomerism in Trimeric and Polymeric 2,3-cis Procyanidins. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 1* **1982**, 1209-1216.
196. Haslam, E., In vino veritas : oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2577-2582.
197. De Freitas, A. P. V. Recherches sur les tanins condensés: Application à l'étude des structures et propriétés des procyanidines oligomères du raisin et du vin. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 1995.
198. Ricardo Da Silva, J. M.; Rosec, J. P.; Bourzeix, M.; Mourgues, J.; Moutounet, M., Dimer and Trimer Procyanidins in Carignan and Mourvedre Grape and Wines. *Vitis* **1992**, *31*, 55-63.
199. Amrani Joutei, K.; Glories, Y.; Mercier, M., Localisation des tanins dans la pellicule de baie de raisin. *Vitis* **1994**, *33*, 133-138.
200. Thorngate, J. H.; Singleton, V. L., Localization of procyanidins in grape seeds. *American Journal of Enology and Viticulture* **1994**, *45*, 259-262.
201. Geny, L.; Saucier, C.; Bracco, S.; Daviaud, F.; Glories, Y., Composition and cellular localization of tannins in grape seeds during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51*, 8051-8054.
202. Gagné, S.; Saucier, C.; Gény, L., Composition and cellular localization of tannins in Cabernet Sauvignon skins during growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 9465-9471.
203. Souquet, J. M.; Cheynier, V.; Broussaud, F.; Moutounet, M., Polymeric Proanthocyanidins from Grape Skins. *Phytochemistry* **1996**, *43*, 509-512.
204. Prieur, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M., Oligomeric and Polymeric Procyanidins from Grape Seeds. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 781-784.

205. Chira, K.; Schmauch, G.; Saucier, C.; Fabre, S.; Teissedre, P. L., Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (cabernet Sauvignon and merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, *57*, 545-553.
206. Lorrain, B.; Chira, K.; Teissedre, P. L., Phenolic composition of Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009-vintage: Comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chemistry* **2011**, *126*, 1991-1999.
207. Chira, K.; Lorrain, B.; Ky, I.; Teissedre, P. L., Tannin composition of cabernet-sauvignon and merlot grapes from the bordeaux area for different vintages (2006 to 2009) and comparison to tannin profile of five 2009 vintage mediterranean grapes varieties. *Molecules* **2011**, *16*, 1519-1532.
208. Pecket, R.; Small, C. J., Occurrence, localisation and development of anthocyanoplast. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2571-2576.
209. Amrani Joutei, K.; Glories, Y., Tanins et anthocyanes: Localisation dans les baies de raisin et mode d'extraction. *Revue Française d'œnologie* **1995**, *153*, 28-31.
210. Darné, G. Recherches sur la composition en anthocyanes des grappes et des feuilles de vigne. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 1991.
211. Pérez-Magariño, S.; González-San José, M. L., Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food Chemistry* **2006**, *96*, 197- 208.
212. Mori, K.; Goto-Yamamoto, N.; Kitayama, M.; Hashizume, K., Loss of anthocyanins in redwine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany* **2007**, *58*, 1935-1945.
213. Roby, G.; Harbertson, J. F.; Adams, D. A.; Matthews, M. A., Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: Anthocyanins and tannins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2004**, *10*, 100-107.
214. Koundouras, S.; Marinos, V.; Gkoulioti, A.; Kotseridis, Y.; Van Leeuwen, C., Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 5077-5086.
215. Mori, K.; Sugaya, S.; Gemma, H., Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae* **2005**, *105*, 319-330.
216. Delgado, R.; Martín, P.; Del Álamo, M.; González, M. R., Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2004**, *84*, 623-630.

217. Pirie, A.; Mullins, M. G., Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. *Plant Physiology* **1976**, *58*, 468- 472.
218. Vivas De Gaulejac, N.; Vivas, N.; Absalon, C.; Nonier, M. F., Identification of procyanidin A2 in grape and wine of *Vitis vinifera* L. CV. Merlot noir and Cabernet sauvignon. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **2001**, *35*, 51-56.
219. Ortega-Regules, A.; Romero-Cascales, I.; Ros-García, J. M.; López-Roca, J. M.; Gómez-Plaza, E., A first approach towards the relationship between grape skin cell-wall composition and anthocyanin extractability. *Analytica Chimica Acta* **2006**, *563*, 26-32.
220. Leone, A. M.; La Notte, E.; Gambacorta, G., Gli antociani nelle fasi di macerazione e di elaborazione del vino. L'influenza della tecnica diffusiva sulla loro estrazione. *Vignevini* **1984**, *4*, 17-25.
221. Fong, R. A.; Kepner, R. E.; Webb, A. D., Acetic Acid Acylated Anthocyanin Pigments in the Grape Skins of a Number of Varieties of *Vitis vinifera*. *American Journal of Enology and Viticulture* **1971**, *22*, 150-155.
222. Albach, R. F.; Kepner, R. E.; Webb, A. D., Structures of Acylated Anthocyanins in *Vitis vinifera*. *Journal of Food Science* **1965**, *30*, 69-76.
223. Burns, J.; Mullen, W.; Landrault, N.; Teissedre, P. L.; Lean, M. E. J.; Crozier, A., Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet Sauvignon and hybrid grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 4096-4102.
224. Brouillard, R.; Delaporte, B.; Dubois, J.-E., Chemistry of anthocyanin pigments. 3. Relaxation amplitudes in pH-jump experiments. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, *100*, 6202-6205.
225. Brouillard, R.; Lang, J., The hemiacetal-*cis*-chalcone equilibrium of malvidin, a natural anthocyanin. *Canadian Journal of Chemistry* **1990**, *68*, 755-761.
226. Cooper-Driver, G. A., Contribution of Jeffrey Harborne and Co-workers to the Study of Anthocyanins. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 229-236.
227. Winkel-Shirey, B., Biosynthesis of Flavonoids and Effect of Stress. *Current Opinion in Plant Biology* **2002**, *5*, 218-223.
228. Boss, P. K.; Davies, C.; Robinson, S. P., Analysis of the Expression of Anthocyanin Pathway Genes in Developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz Grape Berries and the Implication for Pathway Regulation. *Plant Physiology* **1996**, *111*, 1059-1066.
229. Holton, T. A.; Cornish, E. C., Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. *Plant Cell* **1995**, *7*, 1071-1083.



230. Singleton, V. L., Oxygen with phenols and related reactions in must, wines and model systems, observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture* **1987**, *38*, 69-77.
231. Es-Safi, N. E.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M., Studies on the Acetaldehyde-Induced Condensation of (-)-Epicatechin and Malvidin 3-O-Glucoside in a Model Solution System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1999**, *47*, 2096-2102.
232. Meschter, E. E., Fruit color loss, effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1953**, *1*, 574-579.
233. Hrazdina, G., Oxidation of the anthocyanidin-3,5-diglucosides with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: the structure of malvone. *Phytochemistry* **1970**, *9*, 1647-1652.
234. Hrazdina, G.; Franzece, J. A., Oxidation products of acylated anthocyanins under acidic and neutral conditions. *Phytochemistry* **1974**, *13*, 231-234.
235. Lopes, P. L'étude des phénomènes oxydatifs pendant le vieillissement des vins en bouteille. Rôle de l'obturateur. Doctorat, Université Bordeaux 2, Bordeaux, 2005.
236. Jurd, L., Anthocyanidins and related compounds. XV. The effects of sunlight on flavylum salt-chalcone equilibrium in acid solutions. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 2367-2380.
237. Adams, J. B., Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin in acidified aqueous solution at 100 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1973**, *74*, 747-762.
238. Furtado, P.; Figueiredo, P.; Neves, H. C. D.; Pina, F., Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1993**, *75*, 113-118.
239. Piffaut, B.; Kader, F.; Girardin, M.; Metche, M., Comparative degradation pathways of malvidin 3,5-diglucoside after enzymatic and thermal treatments. *Food Chemistry* **1994**, *50*, 115-120.
240. Liao, H. C., Y.; Haslam, E., Polyphenol interactions. Anthocyanins: Co-pigmentation and colour changes in red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1992**, *59*, 299-305.
241. Davies, A. J.; Mazza, G., Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1993**, *41*, 716-720.
242. Mirabel, M.; Saucier, C.; Guerra, C.; Glories, Y., Copigmentation in model wine solutions: Occurrence and relation to wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture*. **1999**, *50*, 211-218.

243. González-Manzano, S.; Dueñas, M.; Rivas-Gonzalo, J. C.; Escribano-Bailón, M. T.; Santos-Buelga, C., Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chemistry* **2009**, *114*, 649-656.
244. Boulton, R., The copigmentation of anthocyanins and Its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* **2001**, *52*, 67-87.
245. Robinson, G. M.; Robinson, R., A survey of anthocyanins. *Biochemical Journal* **1931**, *25*, 1687-1705.
246. Scheffeldt, P.; Hrazdina, G., Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions. *Journal of Food Science* **1978**, *43*, 517-523.
247. Brouillard, R.; Dangles, O., Anthocyanin molecular interactions: The first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chemistry* **1994**, *51*, 365-371.
248. Sweeny, J. G.; Wilkinson, M. M.; Iacobucci, G. A., Effect of flavonoid sulfonates on the photobleaching of anthocyanins in acid solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1981**, *29*, 563-567.
249. Dangles, O.; Saito, N.; Brouillard, R., Kinetic and thermodynamic control of flavylum hydration in the pelargonidin-cinnamic acid complexation. Origin of the extraordinary flower color diversity of *Pharbitis nil*. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 3125-3132.
250. Dangles, O.; Saito, N.; Brouillard, R., Anthocyanin intramolecular copigment effect. *Phytochemistry* **1993**, *34*, 119-124.
251. Hoshino, T., An approximate estimate of self-association constants and the self-stacking conformation of malvidin quinonoidal bases studies by <sup>1</sup>H NMR. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2049-2055.
252. Salas, E.; Guernevé, C. L.; Fulcrand, H.; Poncet-Legrand, C.; Cheynier, V., Structure determination and colour properties of a new directly linked flavanol-anthocyanin dimer. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 8725-8729.
253. Vidal, S.; Meudec, E.; Cheynier, V.; Skouroumounis, G.; Hayasaka, Y., Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52*, 7144-7151.
254. Brouillard, R.; Wigand, M. C.; Dangles, O.; Cheminat, A., PH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1991**, 1235-1241.
255. Berké, B.; De Freitas, V. A. P., Influence of procyanidin structures on their ability to complex with oenin. *Food Chemistry* **2005**, *90*, 453-460.

256. Cheynier, V.; Duenas-Paton, M.; Salas, E.; Maury, C.; Souquet, J.-M.; Sarni-Manchado, P.; Fulcrand, H., Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*. **2006**, *57*, 298-305.
257. Haslam, E., Biogenetically Patterned Synthesis of Procyanidins. *Journal of the Chemical Society. Chemical Communications* **1974**, 594-595.
258. Haslam, E., In Vino Veritas : Oligimeric Procyanidins and the Ageing of Red Wines. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 2577-2592.
259. Matthews, S.; Mila, I.; Scalbert, A.; Pollet, B.; Lapierre, C.; Herve du Penhoat, C. L. M.; Rolando, C.; Donnelly, D. M. X., Method for estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, *45*, 1195-1201.
260. Vidal, S.; Cartalade, D.; Souquet, J.-M.; Fulcrand, H.; Cheynier, V., Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 2261-2266.
261. Escribano-Bailon, T.; Dangles, O.; Brouillard, R., Coupling Reaction between Flavylium Ions and Catechin. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 1583-1592.
262. Remy, S.; Fulcrand, H.; Labarde, B.; Cheynier, V.; Moutounet, M., Frist Confirmation in Red Wine of Products Resulting from Direct Anthocyanin-Tannin Reactions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2000**, *80*, 745-751.
263. Salas, E.; Atasanova, V.; Poncet-Legrand, C.; Meudec, E.; Mazauric, J.-P.; Cheynier, V., Demonstration of the occurrence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *513*, 325-332.
264. Guyot, S.; Vercauteren, J.; Cheynier, V., Structural determination of colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin coupling catalysed by grape polyphenoloxidase. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1279-1288.
265. De Freitas, A. P. V.; Glories, Y.; Laguerre, M., Incidence of molecular structure in oxidation of grape seed procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1998**, *46*, 376-382.
266. Fulcrand, H.; Doc, T.; Es Safi, N.; Cheynier, V., Study of the Acetaldehyde Induced Polymerisation of Flavan-3-ol by Liquid-Chromatography-Ion Spray Mass. *Spectrometry. J. Chromagr.* **1996**, *752*, 85-91.
267. Saucier, C.; Guerra, C.; Pianet, I.; Laguerre, M.; Glories, Y., (+)-Catechin-Acetaldehyde Condensation Products in Relation to Wine Ageing. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 229-234.

268. Saucier, C.; Little, D.; Glories, Y., First Evidence of Acetaldehyde-Flavanol Condensation Products in Red Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. **1997**, *48*, 369-373.
269. Es-Safi, N.-E.; Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Moutounet, M., Competition between (+)-catechin and (-)-epicatechin in acetaldehyde-induced polymerization of flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1999**, *47*, 2088-2095.
270. Wildenrad, H. L. S., V. L., , The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture* **1974**, *25*, 119-126.
271. Romano, P.; Suzzi, G.; Turbanti, L.; Polsinelli, M., Acetaldehyde Production in *Saccharomyces Cerevisiae* Wine Yeasts. *FEMS Microbiology Letters* **1994**, *118*, 213-218.
272. Drinkine, J.; Lopes, P.; Kennedy, J. A.; Teissedre, P. L.; Saucier, C., Analysis of ethylidene-bridged flavan-3-ols in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 1109-1116.
273. Drinkine, J.; Lopes, P.; Kennedy, J. A.; Teissedre, P. L.; Saucier, C., Ethylidene-bridged flavan-3-ols in red wine and correlation with wine age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 6292-6299.
274. Santos-Buelga, C.; Bravo-Haro, S.; Rivas-Gonzalo, J., Interactions between catechin and malvidin-3-monoglucoside in model solutions *Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*. **1995**, *201*, 269-274.
275. Baraud, J., Etude des dérivés naturels de l'acide tartrique. *Annales de chimie* **1954**, *9*, 535-604.
276. Fulcrand, H.; Cheynier, V.; Oszmianski, J.; Moutounet, M., An oxidized tartaric residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 233-227.
277. Es-Safi, N.; Le Guenervé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M., New phenolic compounds obtained by evolution of (+)-catechin and glyoxylic acid in hydroalcoholic medium. *Tetrahedron Letters* **2000**, *41*, 1917-1921.
278. Es-Safi, N.; Le Guenervé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M., 2D NMR analysis for unambiguous structural elucidation of phenolic compounds formed through reaction between (+)-catechin and glyoxylic acid. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2002**, *40*, 693-704.
279. Clark, C. A.; Prenzler, D. P.; Scollary, G. R., The role of copper(II) in the bridging reactions of (+)-catechin and glyoxylic acid in a model white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51*, 6204-6210.

280. Fernandez de Simon, B.; Cadahia, E.; Conde, E.; Garcia-Vallejo, M. C., Low molecular weight phenolic compounds in spanish oak woods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, *44*, 1507-1511.
281. Es-Safi, N.; Cheynier, V.; Moutounet, M., Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48*, 5946-5964.
282. Blanchard, L.; Tominaga, T.; Dubourdieu, D., Formation of furfurylthiol exhibiting a strong coffee aroma during oak barrel fermentation from furfural released by toasted staves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 4833-4835.
283. Baranowski, E. S.; Nagel, C. W., Kinetics of Malvidin-3-glucoside Condensation in Wine Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1983**, *48*, 419-429.
284. Bishop, P. D.; Nagel, C. W., Characterization of the condensation product of malvidin 3,5-diglucoside and catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1984**, *32*, 1022-1026.
285. Bakker, J.; Picinelli, A.; Bridle, P., Model Wine Solution: Colour and Composition Changes During Ageing. *Vitis* **1993**, *32*, 111-118.
286. Dallas, C.; Ricardo-da-Silva, J. M.; Laureano, O., Interactions of Oligomeric Procyanidins in Model Wine Solution Containing Malvidin-3-glucoside and Acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, *44*, 2402-2407.
287. Dallas, C.; Ricardo-da-Silva, J. M.; Laureano, O., Products Formed in Model Wine Solution Involving Anthocyanins Procyanidin B2 and Acetaldehyde. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1996**, *70*, 493-500.
288. Escribano-Bailon, T.; Alvarez-Garcia, M.; Rivas-Gonzalo, J.; Heredia, F. J.; Santos-Buelga, C., Color and Stability of Pigments Derived from the Acetaldehyde-Mediated Condensation between Malvidin 3-O-Glucoside and (+)-Catechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 1213-1217.
289. Atanasova, V.; Fulcrand, H.; Le Guernevé, C.; Cheynier, V.; Moutounet, M., Structure of New Dimeric Acetaldehyde Malvidin 3-glucoside Condensation Product. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 6151-6153.
290. Arnold, R. A.; Noble, A. C.; Singleton, V. L., Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1980**, *28*, 675-678.
291. Asen, S.; Norris, K. H.; Stewart, R. N., Copigmentation of aurone and flavone from petals of *Antirrhinum majus*. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 2739-2741.
292. Uziel, A.; Smadja, J.; Faurion, A., *Physiologie du gout. Oto-Rhino-Laryncgologie*. Paris, 1987; Vol. 2, p 1-10.

293. Brochet, F.; Dubourdieu, D., Wine descriptive language supports cognitive specificity of chemical senses. *Brain and Language* **2001**, *77*, 187-196.
294. Neil, C.; Jane, R., *Biologie*. 2007; Vol. 7, p 1147-1149.
295. Hänig, D. P., Zur psychophysik des geschmacksinnes. *Philosophische Studien* **1901**, *17*, 576-623.
296. Boring, E., *Sensation and perception in the history of experimental psychology*. New York, 1942.
297. Collings, V. B., Human taste response as a function of location of stimulation on the tongue and soft palate. *Perception and Psychophysics* **1974**, *16*, 169-174.
298. Bartoshuk, L. M., The biological basis of food perception and acceptance. *Food Quality and Preference* **1993**, *4*, 21-32.
299. Dawes, C.; Wood, C. M., The contribution of oral minor mucous gland secretions to the volume of whole saliva in man. *Archives of Oral Biology* **1973**, *18*, 337-342.
300. Weatherell, J. A.; Strong, M.; Robinson, C.; Nattress, B. R.; Nakagaki, H.; Main, D. M., Determination of volumes of fluid in the mouth by fluoride dilution. *Caries Research* **1992**, *26*, 94-97.
301. Wu, A. M.; Csako, G.; Herp, A., Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Molecular and Cellular Biochemistry* **1994**, *137*, 39-55.
302. Pellerin, C.; Pellat, B., Biochimie odonto-stomatologie. In *La salive*, Mason, B., Ed. 1986; Vol. 263, pp 33-56.
303. Fox, P. C.; Bodner, L.; Tabak, L. A.; Levine, M. J., Quantitation of total human salivary mucins. *Journal of Dental Research* **1985**, *64*, 327.
304. Nieuw Amerongen, A. V.; Bolscher, J. G. M.; Veerman, E. C. I., Salivary mucins: Protective functions in relation to their diversity. *Glycobiology* **1995**, *5*, 733-740.
305. Lamkin, M. S.; Oppenheim, F. G., Structural features of salivary function. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* **1993**, *4*, 251-259.
306. Peynaud, E.; Blouin, J., *Le goût du vin*. Paris, 1991.
307. Vèrette, E.; Noble, A. C.; Somers, T. C., Hydroxycinnamates of *Vitis vinifera*: Sensory assessment in relation to bitterness in white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1988**, *45*, 267-272.
308. Singleton, V. L.; Esau, P., Phenolic substances in grapes and wine, and their significance. *Advances in Food Research. Supplement* **1969**, *1*, 1-261.
309. Noble, A. C., Bitterness and astringency in wine. In *Developments in food science*, Elsevier, Ed. Rouseff, R. L.: Amsterdam, Oxford, New York, 1990; Vol. 25, pp 145-158.
310. Adler, E.; Hoon, M. A.; Mueller, K. L.; Chandrashekar, J.; Ryba, N. J. P.; Zuker, C. S., A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* **2000**, *100*, 693-702.

311. Andres-Barquin, P. J.; Conte, C., Molecular basis of bitter taste: The T2R family of G protein-coupled receptors. *Cell Biochemistry and Biophysics* **2004**, *1*, 99-112.
312. Bate-Smith, E. C., Astringency in foods. *Food* **1954**, *23*, 419-429.
313. O'Mahony, M., Sensory adaptation. *Journal of Sensory Studies* **1986**, *10*, 237-258.
314. Guinard, J.-X.; Pangborn, R. M.; Lewis, M. J., The time-course of astringency in wine upon repeated ingestion. *American Journal of Enology and Viticulture* **1986b**, *37*, 184-189.
315. Lyman, B. J.; Green, B. G., Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses* **1990**, *15*, 151-164.
316. McManus, J. P.; Davis, K. G.; Lilley, T. H.; Haslam, E., The association of proteins with polyphenols. *Journal of the Chemical Society. Chemical Communications* **1981**, *7*, 309 - 311.
317. Bate-Smith, E. C., Haemanalysis of tannins: The concept of relative astringency. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 907-912.
318. Green, B. G., Oral astringency: a tactile component of flavor. *Acta Psychologica* **1993**, *84*, 119-125.
319. Smith, A. K.; June, H.; Noble, A. C., Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin Food. *Food Quality and Preference* **1996**, *7*, 161-166.
320. Kallithraka, S.; Barker, J.; Clifford, M. N., Evidence that salivary proteins are involved in astringency. *Journal of Sensory Studies* **1998**, *13*, 29-43.
321. Hagerman, A.; Butler, L., The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *Journal of Biological Chemistry* **1981**, *256*, 4494-4497.
322. Brossaud, F.; Cheynier, V.; Noble, A. C., Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2001**, *7*, 33-39.
323. Vidal, S.; Francis, L.; Guyot, S.; Marnet, N.; Kwiatkowski, M.; Gawel, R.; Cheynier, V.; Waters, E. J., The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2003**, *83*, 564-573.
324. Scharbert, S.; Holzmann, N.; Hofmann, T., Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52*, 3498-3508.
325. Faurion, A., Physiologie de la gustation. In *Oto-rhino-laryngologie*, SAS, E. S. e. M. E., Ed. Encyclopédie Médico-Chirurgicale: Paris, 2000; Vol. 20-490-C-10, p 15 p.
326. Dubernet, M.; Dubernet, M., Utilisation de l'analyse infrarouge multiparamétrique à transformée de Fourier en oenologie de routine. *Revue Française d'Enologie* **2000**, *181*, 10-13.

327. Cozzolino, D.; Kwiatkowski, M. J.; Parker, M.; Cynkar, W. U.; Damberg, R. G.; Gishen, M.; Herderich, M. J., Prediction of phenolic compounds in red wine fermentations by visible and near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *513*, 73-80.
328. Patz, C. D.; Blicke, A.; Ristow, R.; Dietrich, H., Application of FT-MIR spectrometry in wine analysis. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *513*, 81-89.
329. Dubernet, M.; Dubernet, M.; Dubernet, V.; Lerch, M.; Coulomb, S.; Traineau, I., Analyse objective de la qualité des vendanges par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et réseaux de neurones. *Revue Française d'Œnologie* **2000**, *185*, 18-21.
330. Birkett, M. D.; Gambino, M. J. T., Estimation of pulp kappa number with near-infrared spectroscopy. *Tappi journal* **1989**, *72*, 193-197.
331. Birkett, M. D.; Gambino, M. J. T., Potential applications for near infrared spectroscopy in the pulping industry. *Paper Southern Africa* **1988**, *Nov/Dec*, 34-38.
332. Easty, D. B.; Berben, S. A.; DeThomas, F. A.; Brimmer, P. J., Near-infrared spectroscopy for the analysis of wood pulp: quantifying hardwood-softwood mixtures and estimating lignin content. *Tappi Journal* **1990**, *73*, 257-261.
333. Wallbacks, L.; Edlund, U.; Norden, B.; Berglund, I., Multivariate characterization of pulp using <sup>13</sup>C NMR, FTIR and NIR. *Tappi Journal* **1991**, *74*, 201-206.
334. Canelas, L. Mise au point sur les différentes techniques infrarouges utilisées dans les industries de santé. Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, Bordeaux, 2004.
335. Gristi, C. Les intérêts et les diverses applications de la Spectroscopie Proche Infra Rouge (SPIR) dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques. Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, Bordeaux, 2003.
336. Bertrand, D.; Dufour, E., *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. 2000; p 566.
337. Lemaitre, N. Développement d'une méthode de dosage par proche infrarouge d'un principe actif dans un comprimé nu. Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, Bordeaux, 2005.
338. Hamon, M.; Pellerin, F.; Guernet, M.; Mahuzier, G., *Abrégés de chimie analytique - tome 3 : Méthodes Spectrales et Analyses Organiques*. 1986; Vol. 2<sup>ème</sup> édition.
339. Rouessac, A.; Rouessac, F., *Analyses chimique : méthodes et techniques modernes*. 1997; Vol. 3<sup>ème</sup> édition.
340. Andrews, D. L., *Perspectives in Modern Chemical Spectroscopy*. 1990; Vol. 1<sup>ère</sup> édition.
341. Ingle, J. D. J.; Crouch, S. R., *Spectrochemical Analysis*. 1988; Vol. 1<sup>ère</sup> édition.
342. Osborne, B. G.; Fearn, T.; Hindle, P. H., *Practical Nir spectroscopy with application in food and beverage analysis*. 1993.



343. Bertrand, D., La spectroscopie proche infrarouge et ses application dans les industries de l'alimentation animale. *Inra Productions Animales* **2002**, *15*, 209-219.
344. Lachenal, G., Analyse par spectroscopie proche infrarouge (PIR) et applications aux polymères. *Analisis Magazin* **1998**, *26*, 20-29.
345. Willis, H. A.; Van Der Maas, J. H.; R.G.J., M., *Laboratory Methods in Vibrational Spectroscopy*. New York, 1987.
346. J.R., H.; Norris, K. H.; Golumbic, C., Determination of the Moisture Content of Seeds by Near-Infrared Spectrophotometry of Their Methanol Extracts. *Cereal Chemistry* **1962**, *39*, 94-99.
347. Goldner, H., Near-IR analysis benefits Europe's pharmaceutical industry. *R&D Magazine* **1994**, *35*, 57.
348. Bregon Galea, V. Contrôle de la qualité par SPIR dans l'industrie pharmaceutique. Université Bordeaux 2 - Victor Segalen, Bordeaux, 1999.
349. Brimmer, P. J.; Griffiths, P. R., Angular Dependence of Diffuse Reflectance Infrared Spectra. Part II: Effect of Polarization. *Applied Spectroscopy* **1987**, *41*, 791-797.
350. Brimmer, P. J.; Griffiths, P. R., Angular Dependence of Diffuse Reflectance Infrared Spectra. Part III: Linearity of Kubelka-Munk Plots. *Applied Spectroscopy* **1988**, *42*, 242-247.
351. Brimmer, P. J.; Griffiths, P. R.; Harrick, N. J., Angular Dependence of Diffuse Reflectance Infrared Spectra. Part I: FT-IR Spectrogoniophotometer. *Applied Spectroscopy* **1986**, *40*, 258-265.
352. Moradi, K. Spectrométrie de réflexion en infrarouge moyen: apports à l'analyse des poudres et des interfaces. Université des sciences et technologies de Lille, Lille, 1993.
353. Vincent, R. K.; Hunt, G. R., Infrared Reflectance from Mat Surfaces. *Applied Optics* **1968**, *7*, 53-59.
354. Coleman, P. B., *Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis*. 1993; p 301.
355. Roger, J. M.; Chauchard, F.; Bellon-Maurel, V., EPO-PLS external parameter orthogonalisation of PLS application to temperature-independent measurement of sugar content of intact fruits. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **2003**, *66*, 191-204.
356. Giordanengo, T.; Charpentier, J. P.; Roger, J. M.; Roussel, S.; Brancheriau, L.; Chaix, G.; Baillères, H., Correction of moisture effects on near infrared calibration for the analysis of phenol content in eucalyptus wood extracts. *Annals of Forest Science* **2008**, *65*.
357. Tarascou, I.; Barathieu, K.; André, Y.; Pianet, I.; Dufourc, E. J.; Fouquet, E., An improved synthesis of procyanidin dimers: Regio- and stereocontrol of the interflavan bond. *European Journal of Organic Chemistry* **2006**, 5367-5377.

358. Kulagowski, K. Les ellagitannins du bois de chêne : extraction, caractérisation, identification et influence sur la qualité du vin. Rapport de stage IUT. Université de Bordeaux 2, Villenave d'ornon, 2009.
359. Vivas, N.; Glories, Y.; Bourgeois, G.; Vitry, C., The heartwood ellagitannins of different oak (*Quercus sp.*) and chestnut species (*Castanea sativa Mill.*).Quantity analysis of red wines aging in barrels. *Journal de Sciences et Techniques de la Tonnellerie* **1996**, 2, 25–49.
360. NF EN 482. Novembre 1994. Indice de classement X 43-277. Atmosphères des lieux de travail. Exigences générales concernant les performances des procédures de mesurage des agents chimiques. In AFNOR, Ed. Paris-La Défense, 1994; p 14.
361. Singleton, V. L.; Rossi, J. A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **1965**, 16, 144-158.
362. Ribéreau-Gayon, P.; Stonestreet, E., Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Annales de Chimie* **1966**, 48, 188-196.
363. Viñas, P.; López-Erroz, C.; Marín-Hernández, J. J.; Hernández-Córdoba, M., Determination of phenols in wines by liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* **2000**, 871, 85-93.
364. Carando, S.; Teissedre, P.-L.; Cabanis, J. C., HPLC coupled with fluorescence detection for the determination of procyanidins in white wines. *Chromatographia* **1999**, 50, 253-254.
365. Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E.; Hermosin-Gutiérrez, I., HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* **2007**, 20, 618-626.
366. Ribereau-Gayon, P.; Stonestreet, E., Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bulletin de la Societe Chimique de France* **1965**, 9, 2649-2652.
367. Sudraud, P., Interprétation des courbes d'absorption des vins rouges. *Annales de technologie agricole* **1958**, 7, 203-208.
368. Ribéreau-Gayon, J.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdiou, D., Chapitre A; Chimie du vin. In *Traité d'oenologie- 2. Chimie du vin. Stabilisation et traitements*, vigne, L., Ed. Dunod: Paris, 2004.
369. Ferreira, V.; López, R.; Cacho, J. F., Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2000**, 80, 1659-1667.
370. Boidron, J. N.; Chatonnet, P.; Pons, M., Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance Vigne Vin* **1988**, 22, 275-294.

371. Chatonnet, P.; Dubourdieu, D.; Boidron, J. N., Incidences des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédées par le bois de chêne. *Sciences des Aliments* **1992**, *12*, 665-685.
372. López, R.; Aznar, M.; Cacho, J.; Ferreira, V., Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* **2002**, *966*, 167-177.
373. Dubernet, M.; Kalanquin, D.; Pardailles, S.; Cutzach-Billard, I., Étude de caractéristiques analytiques et organoleptiques de copeaux de chênes à usage oenologique. *Revue Française d'Œnologie* **2009**, *237*, 8-16.
374. Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Dubourdieu, D., Study on sweet natural non muscat wine aroma 1<sup>st</sup> part : Qualitative analysis of sweet natural wines aroma found during ageing. *Étude sur l'arôme des vins doux naturels non muscatés 1<sup>ère</sup> partie : Analyse qualitative de l'arôme des banyuls et rivesaltes au cours de leur vieillissement* **1998**, *32*, 99-110.
375. Cutzach, I.; Chatonnet, P.; Henry, R.; Pons, M.; Dubourdieu, D., Study in aroma of sweet natural non muscat wines 2<sup>nd</sup> part : Quantitative analysis of volatil compounds taking part in aroma of sweet natural wines during ageing. *Étude sur l'arôme des vins doux naturels non muscatés. 2<sup>e</sup> partie : Dosages de certains composés volatils intervenant dans l'arôme des vins doux naturels au cours de leur vieillissement* **1998**, *32*, 211-221.
376. De Freitas, A. P. V.; Glories, Y.; Bourgeois, G.; Vitry, C., Characterisation of Oligomeric and Polymeric Procyanidins from Grape Seeds by Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1435-1441.
377. Mirabel, M. Caractéristiques Chimiques et Organoleptiques des Tannins des Raisins de *Vitis vinifera* Var. Merlot et Carbernet Sauvignon Issus de Différents Terroirs Bordelais. Université de Bordeaux 2, Bordeaux, 2000.
378. Martin, N.; de Revel, G., Evaluation sensorielle : bases scientifiques et applications oenologique. *Vigne et vin Publication Internationales* **1999**, 85-98.
379. Jourdes, M.; Lefeuvre, D.; Quideau, S., C-glycosidic ellagitannins and their influence on wine chemistry. In *Chemistry and biology of ellagitannins - An underestimated class of bioactive plant polyphenols*, Quideau, S., Ed. Imperial College Press/Word Scientific: Singapore, 2008; pp 320-374.
380. Quideau, S.; Jourdes, M.; Saucier, C.; Glories, Y.; Pardon, P.; Baudry, C., DNA topoisomerase inhibitor Acutissimin A and other flavano-ellagitannins in red wine. *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 6012-6014.
381. Prida, A.; Chatonnet, P., Impact of oak-derived compounds on the olfactory perception of barrel-aged wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **2010**, *61*, 408-413.

382. Mosedale, J. R.; Puech, J.-L.; Feuillat, F., The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *American Journal of Enology and Viticulture* **1999**, *50*, 503-512.
383. Vivas, N.; Glories, Y., Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during aging. *American Journal of Enology and Viticulture* **1996**, *47*, 103-107.
384. Herve du Penhoat, C. L. M.; Michon, V. M. F.; Peng, S.; Viriot, C.; Scalbert, A.; Gage, D., Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. roburins A-E. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions 1* **1991**, 1653-1660.
385. Masson, G.; Moutounet, M.; Puech, J. L., Ellagitannin content of oak wood as a function of species and of sampling position in the tree. *American Journal of Enology and Viticulture* **1995**, *46*, 262-268.
386. Bergès, L.; Chevalier, R.; Dumas, Y.; Franc, A.; Gilbert, J.-M., Sessile oak (*Quercus petraea* Liebl.) site index variations in relation to climate, topography and soil in even-aged high-forest stands in northern France. *Annals of Forest Science* **2005**, *62*, 391–402.
387. Atanasova, B.; Thomas-Danguin, T.; Langlois, D.; Nicklaus, S.; Etievant, P., Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal* **2004**, *19*, 476-482.