



HAL
open science

Structures chimiques et évolution de la composition en ellagitanins dans les bois et spiritueux : étude sur les eaux-de-vie de Cognac.

Mathilde Gadrat

► To cite this version:

Mathilde Gadrat. Structures chimiques et évolution de la composition en ellagitanins dans les bois et spiritueux : étude sur les eaux-de-vie de Cognac.. Biologie végétale. Université de Bordeaux, 2021. Français. NNT : 2021BORD0353 . tel-03917127

HAL Id: tel-03917127

<https://theses.hal.science/tel-03917127v1>

Submitted on 1 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
SPÉCIALITÉ OENOLOGIE

Par

Mathilde GADRAT

**Structures chimiques et évolution de la composition en
ellagitannins dans les bois et spiritueux : étude sur les eaux-
de-vie de Cognac**

Sous la direction du Dr. Kléopatra CHIRA

Soutenue le 13 décembre 2021

Membres du jury :

Mme. KALLITHRAKA, Stamatina	Professeure, Université d'Athènes	Présidente
M. DE FREITAS, Victor	Professeur, Université de Porto	Rapporteur
M. ZAMORA, Fernando	Professeur, Université Rovira i Virgili	Rapporteur
M. QUIDEAU, Stéphane	Professeur, Université de Bordeaux	Examineur
M. TEISSEDRE, Pierre-Louis	Professeur, Université de Bordeaux	Membre invité
Mme. CHIRA, Kléopatra	Chargée de Recherches, Société Nadalié, France	Directrice de thèse

« Le bonheur est parfois caché dans l'inconnu. »

Victor Hugo

A mes grands-parents,

A Jean-Luc, qui a indéniablement contribué à ma passion pour l'œnologie,

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier **Kléopatra Chira**, Chargée de Recherches de la société Nadalié, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail de thèse. Merci de m'avoir fait confiance en me permettant de mener à bien cette thèse passionnante ; pour m'avoir encadrée et soutenue durant ces trois dernières années. Merci pour tous nos échanges, professionnels ou personnels, pour son écoute, sa bienveillance, ses conseils et ses encouragements. Elle a toujours su se rendre disponible malgré sa double casquette professionnelle. Au-delà d'avoir une directrice de thèse, j'ai pu faire une belle rencontre, et je lui exprime toute ma reconnaissance.

Je tiens également à remercier les membres de mon jury de thèse, pour avoir accepté de juger ce travail et d'assister à la soutenance. Merci à la **Professeur Stamatina Kallithraka**, Université d'Athènes, pour avoir présidé ce jury de thèse. Merci aux Professeurs **Victor de Freitas**, Université de Porto, et **Fernando Zamora**, Université Rovira i Virgili, Tarragona, pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail en tant que rapporteurs. Merci au Professeur **Stéphane Quideau**, Université de Bordeaux, d'avoir évalué mon travail de thèse en tant qu'examineur. Enfin, merci au Professeur **Pierre-Louis Teissèdre**, Université de Bordeaux, pour m'avoir soutenue lors de cette soutenance de thèse en tant que membre invité.

Je souhaite également remercier le **groupe Beam Suntory** et la **Maison Courvoisier** pour le financement de cette thèse. En particulier, un grand merci à Monsieur **Patrice Pinet**, Directeur général de Courvoisier durant ma thèse, pour avoir financé une partie de ce travail, pour sa gentillesse, sa disponibilité et les échanges que nous avons eus. Je remercie également Monsieur **Eddie Etsuro Murakami**, Senior General Manager, Development Department chez Suntory, pour avoir accepté de financer une partie de la thèse ainsi que pour tous nos échanges toujours instructifs. Je leur exprime toute ma gratitude et ma reconnaissance. Je tiens par ailleurs à remercier Monsieur **Joël Lavergne**, ancien Directeur Qualité de Courvoisier pour son soutien au cours de ces trois dernières années, pour tous ses conseils techniques, pour tous nos échanges, pour avoir grandement contribué à ce travail de thèse, à travers son aide pour la mise au point de plans expérimentaux, pour avoir taillé du bois tout au long de la thèse, pour s'être toujours rendu disponible, et pour avoir partagé sa passion du Cognac et de la recherche avec moi. J'ai énormément appris à ses côtés, et pour cela je lui exprime toute ma gratitude. Merci également à Madame **Catherine Emo**, actuelle Directrice Qualité Courvoisier, ma manager, pour avoir à son tour suivi ces trois ans de thèse, pour sa gentillesse, ses conseils et son soutien.

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à cette thèse, via des collaborations. A savoir, un grand merci à la **Tonnellerie de Jarnac** pour la fabrication des fûts qui ont permis d'explorer une grande diversité de chauffe de barriques. Une pensée particulière pour **Stephie Quarré**, Responsable Commerciale, et **Matthieu De Pannemaecker**, Directeur Commercial, que j'ai eu l'occasion de rencontrer, merci pour nos échanges passionnants. Je tiens également à remercier chaleureusement le Professeur **Stéphane Quideau** ainsi que le Docteur **Yoan Capello** et l'équipe du CESAMO pour avoir réalisé les analyses de RMN, l'identification structurale du nouveau composé et pour m'avoir fourni des composés purs d'ellagitanins. Un grand merci, ce fut un plaisir de travailler avec vous. Enfin, je remercie le Professeur **Axel Marchal** ainsi que la Docteur **Delphine Winstel** pour la collaboration entamée sur les whiskey tanins. Merci Delphine pour ton aide, ton soutien et tes conseils au cours de ces trois ans.

Je remercie mes stagiaires, **Valentin Paradis**, **Killian Lamy** et **Amélie Guerci** pour avoir contribué à cette thèse, et leur souhaite à tous une bonne continuation.

Je tiens maintenant à remercier tous les **collègues Courvoisier** que j'ai pu côtoyer de près ou de loin lors de cette thèse. Un grand merci à **Jean-Michel Boiffier** pour nos échanges, ses conseils, sa bienveillance, pour m'avoir permis d'obtenir un aussi grand nombre d'échantillons lors de la thèse, et pour avoir encadré le bon déroulement des plans expérimentaux. Merci à **Sébastien Monérat** pour toutes les dérogations pour le transport d'une grande quantité d'alcool au cours de ces trois dernières années. Un grand merci à **Sadahiro Ito** et **Thibaut Hontanx** pour leur gentillesse et la qualité de nos échanges au cours de cette thèse. Je tiens à remercier particulièrement **Gwladys Rebierre** pour la contribution à cette thèse. Merci pour les dosages des composés volatils, merci pour ton accueil, pour m'avoir permis de m'intégrer au sein de l'entreprise, merci pour le logement à chaque fois que je restais sur Cognac, merci pour ton soutien, ton écoute. Je te témoigne ma profonde reconnaissance. Un immense merci aussi à **David Meillat**, **Isabelle Villard**, et **Yasmine Merle** pour tous les moments partagés, pour votre accueil chez Courvoisier, pour m'avoir intégrée à part entière au sein de l'entreprise, merci pour votre écoute et votre soutien. J'ai passé des moments inoubliables lors de cette thèse grâce à vous. Merci à **Caroline** pour son aide, ses contacts et sa bienveillance. Bon courage pour la suite. Merci à **Elizabeth** et **Yasmine**, pour l'organisation des séances de dégustation et leur aide. Je remercie vivement l'équipe des chais, **Gérard**, **Patrice**, **Jean-Michel**, **Adrien**, **Julien**, **Geoffrey**, **Sébastien** et tous ceux qui m'ont aidée à prélever les eaux-de-vie dans les chais de bon matin, pour leur disponibilité, leur gentillesse et tous les bons moments passés ensemble.

Enfin, un grand merci à tout le **comité de dégustation Courvoisier** qui a participé aux nombreuses séances de dégustation réalisées dans le cadre de la thèse.

Je remercie également les membres de l'équipe Polyphénols de l'Unité de Recherche Œnologie qui ont partagé mon quotidien durant ces trois années :

Le Professeur **Pierre-Louis Teissèdre** pour m'avoir accueillie dans son équipe et m'avoir encouragée durant ces trois années. Merci pour tout le temps qu'il m'a accordé au cours de cette thèse. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Michaël Jourdes, pour son soutien et sa bienveillance depuis mon master. Merci pour toutes nos discussions, pour toute votre aide en chimie, pour les réparations au laboratoire, pour vos conseils, pour votre implication dans la réussite des membres de cette équipe. Je vous exprime toute ma reconnaissance, sans vous cette thèse n'aurait pas été la même.

Alicia, Adeline, Anne-Laure, Clément, Gauthier et Ruth, merci pour tous les bons moments passés ensemble, pour votre aide, votre gentillesse, votre soutien, vous avez chacun à votre manière contribué à mon épanouissement professionnel et personnel dans cette thèse. **Audrey**, merci pour toutes les commandes du labo, et pour gérer ça d'une main de fer. Une pensée également à **Zurine, Reyes, Claire**, qui ont partagé mon quotidien au laboratoire.

Je tiens à remercier tous les membres de l'Unité de Recherche Œnologie qui ont contribué à cette thèse d'une façon ou d'une autre :

Merci au Professeur **Philippe Darriet** pour m'avoir acceptée au sein de l'Unité de Recherche. Merci à tous les dégustateurs pour avoir participé aux dégustations organisées à l'ISVV. Merci à **Sophie Tempère** tous tes conseils en analyse sensorielle, pour nos discussions de couloir, pour avoir corrigé une de mes publications, pour ta gentillesse et ta bienveillance. Merci à **Pierre Waffo-Teguo** pour le prêt de l'HPLC semi-préparative durant de longs mois. Merci à **Pascaline Redon** pour ton aide à chaque fois votre aide et le temps que vous m'avez consacré pour le triple quadrupôle ou le montage de distillation et le prêt de composés.

Merci également à ceux et celles que je n'ai pas encore cités mais qui ont contribué à faire que mes trois années de thèse soient belles : **Marie A, Marie C, Justine L, Sara**, merci pour tous les bons moments au travail mais aussi en dehors, merci pour votre présence, votre soutien dans les bons et mauvais jours, pour votre amitié. Merci à tous les collègues avec qui j'ai pu passer de bons moments, pour toutes les pauses midi. Ce furent de bons moments de décompression.

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à **ma famille**, qui m'a toujours soutenue dans mes choix, pour leur soutien permanent, pour leur présence à ma soutenance de thèse. Merci à

mes parents pour leur amour et leur éducation qui ont contribué à ce que j'en sois là aujourd'hui. Merci également à **ma belle-famille** pour leur gentillesse et leur soutien.

Enfin, **Edouard**, partager mon quotidien au travail et dans la vie durant trois ans jusqu'à nos soutenances respectives n'a pas toujours été facile. Mais si je suis aussi bien arrivée au bout de cette thèse, c'est en grande partie grâce à toi. Tu m'as toujours conseillé, tu m'as énormément appris et aidé en tant que collègue, mais tu as surtout embelli ma vie. Merci pour ton soutien indéfectible, ton réconfort, ta bienveillance. Merci pour tout ce que tu m'apportes chaque jour. Ces années n'auraient pas été aussi belles sans toi.

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications scientifiques :

Gadrat, M., Lavergne, J., Emo, C., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Validation of a mass spectrometry method to identify and quantify ellagitannins in oak wood and cognac during aging in oak barrels. *Food Chemistry*, 2021, 342, 128223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128223>.

Gadrat, M., Lavergne, J., Emo, C., Teissedre, P.L., and Chira, K. (2022). Sensory characterisation of Cognac eaux-de-vie aged in barrels subjected to different toasting processes. *OENO One* 56, 17–28.

Gadrat, M., Yoan Capello, Emo, C., Lavergne, J., Quideau, S., Jourdes., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Identification, Quantitation and Sensory Contribution of New C-glucosidic ellagitannin-Derived Spirit Compounds. *Food Chemistry*, *accepted*.

Gadrat, M., Emo, C., Lavergne, J., Jourdes., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Impact of barrel toasting on the ellagitannins composition in aged Cognac eaux-de-vie. *Molecules*, *under submission*.

Publications techniques :

Gadrat, M., Lavergne, J., Emo, C., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Ellagitannins quantification in oak wood and cognac eaux-de-vie: Sourced from the research article “Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitannins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels.” (*Food Chem.*, 2021). Original language of the article: English. *IVES Technical Reviews, Vine and Wine*, 2021. <https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2021.4610>.

Communications au cours de congrès internationaux :

Communications orales :

Gadrat, M., Yoan Capello, Lavergne, J., Emo, C., Quideau, S., Jourdes., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Identification and quantification of molecular ellagitannins in Cognac eaux-de-vie by mass spectrometry method : evolution over time toward new compounds. *International Conference on Polyphenols*, Virtual Edition, 2021.

Communications affichées :

Gadrat, M., Lavergne, J., Emo, C., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Development of a rapid HPLC-TQ method to determine ellagitannins in oak wood and cognac: evolution of their concentration during cognac aging. *11th symposium International d'Oenologie de Bordeaux – Vino Analytica Scientia*. Bordeaux, France, 2019.

Gadrat, M., Lavergne, J., Emo, C., Teissedre, P.-L., & Chira, K. Identification and quantification of molecular ellagitannins in Cognac eaux-de-vie by a mass spectrometry method: barrel toasting and aging impact. *Macrowine*, virtual edition, 2021.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	I
LISTE DES TABLEAUX	II
LISTE DES FIGURES	III
INTRODUCTION GENERALE	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1. LE COGNAC : DE SON HISTOIRE A SON ELABORATION	6
1.1. La naissance du Cognac.....	6
1.2. Le terroir cognaçais	6
1.3. La vinification des vins de Cognac.....	7
1.4. La double distillation charentaise	8
1.5. Le vieillissement des eaux-de-vie de Cognac.....	9
2. LE BOIS DE CHENE EN TONNELLERIE	11
2.1. Historique	11
2.2. Origine géographique des chênes	11
2.3. Le processus de fabrication de la barrique	12
2.3.1. Sélection des bois	12
2.3.2. Le fendage	12
2.3.3. Le séchage	12
2.3.4. Le montage de la coque	13
2.3.5. Le cintrage et la chauffe	14
2.3.6. Les fonds et cercles.....	14
3. LA COMPOSITION CHIMIQUE DU BOIS DE CHENE	16
3.1. La composition macromoléculaire	16
3.1.1. La cellulose.....	16
3.1.2. Les hémicelluloses.....	16
3.1.3. La lignine.....	17
3.2. Les extractibles	17
3.2.1. Les lignanes	17
3.2.2. Les coumarines	18
3.2.3. Les lactones	18
3.2.4. Les dérivés furaniques	19
3.2.5. Les phénols et les aldéhydes phénoliques	20

3.2.6. Les triterpènes.....	21
3.2.7. Les tanins du bois de chêne	21
4. LES ELLAGITANINS DU BOIS DE CHENE	22
4.1. Structure et localisation des ellagitanins C-glucosidiques du bois de chêne.....	22
4.2. Biosynthèse des ellagitanins C-glucosidiques	23
5. LES TENEURS EN ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES INFLUENCEES PAR DIFFERENTS FACTEURS.....	26
5.1. L'espèce de chêne.....	26
5.2. L'origine géographique et la variabilité interindividuelle du bois	26
5.3. Les processus de tonnellerie	27
5.3.1. Le séchage du bois.....	28
5.3.2. La chauffe de la barrique	28
6. EVOLUTION DES ELLAGITANINS DANS LES SPIRITUEUX.....	30
7. CONTRIBUTION QUALITATIVE DES ELLAGITANINS AUX SPIRITUEUX	32
7.1. Activité anti-oxydante	32
7.2. Propriétés sensorielles des ellagitanins.....	33
7.2.1. La couleur	34
7.2.2. Les propriétés gustatives : amertume et astringence	35
8. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	38
CHAPITRE 1 : DEVELOPPEMENT ET VALIDATION DE LA METHODE DE DOSAGE DES ELLAGITANINS.....	40
1. INTRODUCTION	41
2. ARTICLE : VALIDATION OF A MASS SPECTROMETRY METHOD TO IDENTIFY AND QUANTIFY ELLAGITANNINS IN OAK WOOD AND COGNAC DURING AGING IN OAK BARRELS.....	42
3. CONCLUSION.....	50
CHAPITRE 2 : IMPACT DE LA FABRICATION DES BARRIQUES ET DES TECHNIQUES D'ELEVAGE DES EAUX-DE-VIE SUR LES TENEURS EN ELLAGITANINS	51
1. INTRODUCTION	52
1. EVOLUTION DES ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES DANS LE BOIS DE CHENE AU COURS DU SECHAGE DES BOIS EN TONNELLERIE.....	54
1.1. Introduction.....	54
1.2. Plan expérimental	55

1.3. Optimisation de l'échantillonnage	56
1.4. Préparation des échantillons de bois pour analyse	57
1.5. Influence de l'origine géographique du bois sur les teneurs en ellagitanins	58
1.6. Influence de la position de la palette sur les teneurs en ellagitanins	60
1.7. Influence du séchage sur la composition en ellagitanins	62
1.8. Influence de l'arrosage pendant le séchage sur la composition en ellagitanins.....	66
1.9. Bilan du séchage et séchage avec arrosage sur le comportement des ellagitanins.....	69
1.10. Conclusion	71
2. ETUDE DE L'EXTRACTION DES ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES PAR LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC EN ROTATIONS : IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE	73
2.1. Introduction.....	73
2.2. Plan expérimental	74
2.3. Préparation des échantillons d'eaux-de-vie pour analyse.....	76
2.4. Influence de l'eau-de-vie blanche de départ sur l'extraction des ellagitanins du bois.....	77
2.5. Potentiel d'extraction des barriques au cours des rotations en fonction de la chauffe.....	78
2.6. Variabilité interindividuelle et évolution des ellagitanins en fonction de la chauffe.....	81
2.7. Conclusion	82
3. EVOLUTION DES ELLAGITANINS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC LORS DU VIEILLISSEMENT : IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE.....	84
3.1. Introduction.....	84
3.2. Article : Impact of barrel toasting on ellagitannin composition of aged Cognac eau-de-vie.....	86
4. ANALYSES DES COMPOSES AROMATIQUES DU BOIS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC.....	107
4.1. Introduction.....	107
4.2. Impact de la chauffe de la barrique sur la composition aromatique du bois de chêne dans les eaux-de-vie de Cognac au cours du vieillissement.....	108
4.3. Evolution de la concentration des composés volatils du bois dans les eaux-de-vie de Cognac lors de la première année de vieillissement	111

4.4. Conclusion	115
5. CONCLUSION	116
CHAPITRE 3 : CARACTERISATION SENSORIELLE DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC VIEILLIES DANS DES BARRIQUES FABRIQUEES AVEC DIFFERENTES CHAUFFES	119
1. IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE SUR LA COULEUR DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC.....	119
1.1. La colorimétrie par la méthode CIE	119
1.2. Impact de la chauffe de la barrique sur la couleur des eaux-de-vie vieilles un an en barrique.....	121
2. CARACTERISATION SENSORIELLE DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC A UN AN DE VIEILLISSEMENT : IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE	124
2.1. Introduction.....	124
2.2. Article : Sensory characterization of Cognac eaux-de-vie aged with barrels representing different toasting process.....	125
2.3. Parallèle entre les analyses sensorielles et les analyses chimiques	138
3. RECHERCHE DE L'IMPACT ORGANOLEPTIQUE DES ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC	142
CHAPITRE 4 : RECHERCHE DES COMPOSES D'EVOLUTION DES ELLAGITANINS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC AU COURS DU VIEILLISSEMENT	147
1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	147
1.1. Eaux-de-vie utilisées et préparation des échantillons	147
1.2. Système utilisé pour l'analyse UPLC- DAD-ESI-Q-TOF.....	148
1.3. Déroulement des étapes utilisées dans la recherche de composés d'évolution.....	149
1.3.1. Recherche de possibles dérivés d'ellagitanins dans une eau-de-vie vieillie en barrique.....	149
1.3.2. Fractionnement à partir d'une solution modèle d'eau-de-vie.....	150
2. ARTICLE : IDENTIFICATION, QUANTIFICATION AND SENSORY CONTRIBUTION OF NEW C-GLUCOSIDIC ELLAGITANNIN-DERIVED SPIRIT COMPOUNDS	154
3. AUTRES POSSIBLES COMPOSES D'EVOLUTION DES ELLAGITANINS PRESENTS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC	189
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	195

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	200
ANNEXES	222
LISTE DES ANNEXES	224

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP : Analyse en Composante Principale
BNIC : Bureau National Interprofessionnel du Cognac
CAH : Classification Ascendante Hiérarchique
DAD : Diode Array Detector
eq : équivalent
EIC: *Extracted Ion Chromatogram*
ESI : *ElectroSpray Ionization*
FB : Fin Bois
GC : Grande Champagne
GC-MS : Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (*Gaz Chromatography coupled with Mass Spectrometry*)
Glu-BA : Acide bartogénique
GPCRs : Glycoproteins Coupled Receptor
HHDP : Hexahydroxydiphényle
HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance (*High Performance Liquid Chromatography*)
MDS : *Multidimensional Scaling*
NHTP : Nonahydroxyterphényle
PLS : *Partial Least Squares*
PRP : Protéines salivaires
Q : Quercus
QQQ : Triple Quadripôle
QTTs : Quercotriterpénosides
Q-ToF : *Quadrupole Time-of-Flight*
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
ROT : Rotation
SIM : *Single Ion Monitoring*
SPE : Extraction en phase solide (*Solid Phase Extraction*)
TAS2R : Récepteurs du goût amer
UPLC : Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance (*Ultra Performance Liquid Chromatography*)
UV : Ultra-Violet
VIP : *Variable Importance for the Projection*
VS : *Very Special*
VSOP : *Very Superior Old Pale*
XO : *Extra Old*
5-MF : 5-Méthylfurfural
5-HMF : 5-Hydroxyméthylfurfural

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1. Description des types de chauffes étudiés</i>	<i>75</i>
<i>Tableau 2. Concentrations des composés volatils du bois retrouvées dans les eaux-de-vie de Cognac de 12 mois vieilles dans les barriques représentant différentes chauffes.....</i>	<i>114</i>
<i>Tableau 3. Valeurs moyennes des caractéristiques chromatiques mesurées pour les huit eaux-de-vie vieilles 12 mois dans les barriques fabriquées à huit chauffes différentes</i>	<i>121</i>
<i>Tableau 4. Valeurs du ΔE^*_{ab} calculé à partir des paramètres CIE mesurés.....</i>	<i>123</i>
<i>Tableau 5. Description des eaux-de-vie de la verticale</i>	<i>147</i>

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1. Carte des crus de Cognac (BNIC).....</i>	<i>7</i>
<i>Figure 2. Schéma d'un alambic charentais (BNIC).....</i>	<i>9</i>
<i>Figure 3. Empilement des merrains lors du séchage sur un parc à bois.....</i>	<i>13</i>
<i>Figure 4. Chauffe aromatique de la barrique.</i>	<i>14</i>
<i>Figure 5. Structure de la trans-β-méthyl-γ-octalactone et de la cis-β-méthyl-γ-octalactone. .</i>	<i>19</i>
<i>Figure 6. Structure des trois dérivés furaniques.....</i>	<i>19</i>
<i>Figure 7. Structure des quatre aldéhydes phénoliques du bois de chêne.</i>	<i>20</i>
<i>Figure 8. Structure des huit principaux ellagitanins C-glucosidiques retrouvés dans le bois de chêne.....</i>	<i>22</i>
<i>Figure 9. Coupe transversale d'un tronc de chêne (Petit, 2013).....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 10. Voie de synthèse des précurseurs de gallotanins et d'ellagitanins.</i>	<i>24</i>
<i>Figure 11. Voie de synthèse de la vescalagine et de la castalagine à partir de la tellimagrandine II.</i>	<i>25</i>
<i>Figure 12. Oxydation de la vescalagine suivie de l'hydrolyse de la β-1-O-éthylvescalagine.</i>	<i>31</i>
<i>Figure 13. Schéma du plan expérimental du séchage et de l'arrosage des merrains</i>	<i>56</i>
<i>Figure 14. Protocole expérimental pour l'analyse des bois</i>	<i>58</i>
<i>Figure 15. Influence de l'origine géographique des merrains sur les concentrations en ellagitanins C-glucosidiques pour chaque temps de séchage (Bois frais, 6 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois).....</i>	<i>59</i>
<i>Figure 16. Influence de la position de la palette sur les concentrations en ellagitanins C-glucosidiques pour T0 : Bois frais.</i>	<i>61</i>
<i>Figure 17. Influence de la position de la palette sur les concentrations en ellagitanins C-glucosidiques à T4 : 24 mois de séchage.</i>	<i>62</i>
<i>Figure 18. Evolution de la concentration de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques au cours du temps de séchage pour les deux origines géographiques.</i>	<i>63</i>
<i>Figure 19. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains provenant de Dordogne pour chaque temps de séchage.....</i>	<i>64</i>
<i>Figure 20. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains provenant d'Indre pour chaque temps de séchage.....</i>	<i>64</i>
<i>Figure 21. Evolution de la concentration de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques au cours du séchage avec arrosage pour les deux origines géographiques... ..</i>	<i>67</i>

<i>Figure 22. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains arrosés provenant de Dordogne pour chaque temps de séchage.....</i>	<i>68</i>
<i>Figure 23. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains arrosés provenant d'Indre pour chaque temps de séchage.....</i>	<i>69</i>
<i>Figure 24. Pourcentage de présence de chaque ellagitanin dans les bois de Dordogne et d'Indre à deux temps de prélèvements pour les deux modalités séchage et séchage avec arrosage....</i>	<i>70</i>
<i>Figure 25. Schéma du plan expérimental concernant l'étude du potentiel d'extraction des barriques lors du vieillissement avec rotations.....</i>	<i>74</i>
<i>Figure 26. Schéma du plan expérimental de la modalité 1 : rotations courtes</i>	<i>76</i>
<i>Figure 27. Schéma du plan expérimental de la modalité 2 : rotations longues.....</i>	<i>76</i>
<i>Figure 28. Concentration en ellagitanins dans quatre eaux-de-vie blanches en contact avec du bois 21 jours.</i>	<i>77</i>
<i>Figure 29. Schéma explicatif du calcul de l'extraction cumulée des ellagitanins lors des rotations avec C_{ROT1}, C_{ROT2} et C_{ROT3} qui sont les concentrations en ellagitanins à la fin des rotations 1, 2 et 3 respectivement, pour lesquelles $C_{ROT2} = C_{ROT1} + C_{ROT2-4mois}$ et $C_{ROT3} = C_{ROT2} + C_{ROT3-6mois}$.....</i>	<i>78</i>
<i>Figure 30. Comparaison de l'extraction cumulée des ellagitanins au cours des rotations courtes et des rotations longues pour quatre chauffe de barriques.</i>	<i>79</i>
<i>Figure 31. Extraction cumulée des ellagitanins au cours des rotations longues pour quatre chauffe de barriques.</i>	<i>80</i>
<i>Figure 32. Concentrations de la somme des ellagitanins individuels et de la castalagine dans les eaux-de-vie à 3 mois en fonction de la chauffe de la barrique pour trois rotations.</i>	<i>81</i>
<i>Figure 33. Schéma du plan expérimental concernant l'étude des ellagitanins dans une eau-de-vie vieillie en barriques représentant différentes chauffe.....</i>	<i>85</i>
<i>Figure 34. Analyse en Composante Principale (ACP) sur deux dimensions après 1 mois de vieillissement représentant A) la carte de répartition des individus en fonction des chauffe et B) le cercle de corrélation des variables associées.</i>	<i>110</i>
<i>Figure 35. Analyse en Composante Principale (ACP) sur deux dimensions après 12 mois de vieillissement représentant A) la carte de répartition des individus en fonction des chauffe et B) le cercle de corrélation des variables associées.</i>	<i>110</i>
<i>Figure 36. Cinétique d'évolution de la concentration en composés volatils du bois lors de la première année du vieillissement des eaux-de-vie dans les barriques représentant huit chauffe différentes.</i>	<i>113</i>
<i>Figure 37. Représentation de l'espace couleur L^*a^*b (Konica Minolta, 2007)</i>	<i>120</i>

<i>Figure 38. Positionnement dans l'espace à trois dimensions des eaux-de-vie vieilles 12 mois dans les barriques à huit chauffes différentes selon les axes L*, a* et b*.....</i>	<i>122</i>
<i>Figure 39. Cercle de corrélation issus de la régression PLS appliquée aux composés chimiques dosés), à la note moyenne des intensités des descripteurs "cuir", "tabac", "torréfié", "bois sec", "fraicheur", "sucrosité" et "chaleur" pour les huit eaux-de-vie de Cognac analysées.....</i>	<i>139</i>
<i>Figure 40. Schéma de présentation des quatre tests triangulaires</i>	<i>143</i>
<i>Figure 41. Chromatogramme UV de l'eau-de-vie GC-10 ainsi de l'ion m/z 301.....</i>	<i>149</i>
<i>Figure 42. Chromatogramme UV de l'extrait sec de la solution modèle avant passage sur colonne TSK, et des huit fractions obtenues après colonne TSK.....</i>	<i>152</i>
<i>Figure 43. Chromatogramme associé à l'ion moléculaire de masse exacte m/z 1109,1489 (A), ainsi que le spectre de fragmentation en MS/MS associé (B), et la possible structure des deux isomères de ce composé (C).....</i>	<i>190</i>
<i>Figure 44. Chromatogramme associé à l'ion moléculaire de masse exacte m/z 807,1326 (A), ainsi que le spectre de fragmentation en MS/MS associé (B), et la possible structure des deux isomères de ce composé (C).....</i>	<i>191</i>
<i>Figure 45. Chromatogramme associé à l'ion moléculaire de masse exacte m/z 961,1261 (A), ainsi que le spectre de fragmentation en MS/MS associé (B), et la possible structure de ce composé (C).....</i>	<i>193</i>
<i>Figure 46. Spectre de fragmentation de la β-1-O-éthylvescalagine.....</i>	<i>193</i>

INTRODUCTION GENERALE

Le Cognac, spiritueux français de couleur ambrée, conditionné de façon élégante, incarne le prestige. Victor Hugo le qualifiait d'ailleurs de « liqueur des dieux ». Il est souvent associé à l'art, les distillateurs et maîtres de chais étant considérés comme des artistes. Le Cognac est constitué d'eau-de-vie de vin doublement distillée dans un alambic charentais en cuivre. L'art de la distillation demande beaucoup de patience et de savoir-faire, car il faudra en réalité 7500 litres de vin lors d'une séance de distillation de plus de 30 heures, pour obtenir 750 litres d'eau-de-vie blanche titrant aux alentours de 70 % d'alcool (Faith & Guillard, 2016). Le distillateur ou bouilleur de cru devra sélectionner les fractions de distillat les plus qualitatives afin d'obtenir des eaux-de-vie aux fragrances uniques, possédant des arômes floraux et fruités. L'art du vieillissement intervient à son tour. En effet, le passage de l'eau-de-vie en barrique est une étape incontournable et essentielle dans l'élaboration d'un Cognac de qualité. Les eaux-de-vie vont vieillir dans des barriques de bois de chêne, parfois durant des décennies, avant d'être sélectionnées pour l'assemblage. C'est à ce moment-là que le maître de chai entre en jeu, créant des produits uniques, en jouant avec des centaines d'eaux-de-vie tel un musicien avec ses notes de musiques, ayant pour finalité la création d'un Cognac.

Depuis maintenant des décennies, les scientifiques se sont adonnés à une meilleure connaissance des eaux-de-vie de Cognac, notamment à travers la découverte d'un grand nombre de composés volatils qui composent les jeunes eaux-de-vie distillées. De nombreuses familles chimiques ont été retrouvées, telles que les esters, alcools supérieurs, aldéhydes, terpènes et bien d'autres (Ferrari *et al.*, 2004; Ledauphin *et al.*, 2010). Des études plus récentes se sont intéressées à l'impact de la distillation (Awad *et al.*, 2017; Thibaud *et al.*, 2021) avec ou sans lies, pour une meilleure compréhension du vieillissement des eaux-de-vie d'un point de vue aromatique (Thibaud *et al.*, 2019, 2020). Toutefois, la barrique n'apporte pas seulement aux eaux-de-vie de nouveaux arômes permettant l'obtention du bouquet final. Elle permet tout d'abord un apport de couleur, car c'est au contact du bois que l'eau-de-vie en vieillissant, aura des teintes de rouge et jaune (Schwarz *et al.*, 2011), obtenant ainsi une robe « dorée », « ambrée », ou encore « topaze » (Canas *et al.*, 2000). Le bois transmet également un grand nombre de composés non-volatils aux eaux-de-vie, qui influent à la fois sur les sensations tactiles et le goût de ces spiritueux. Des études récentes ont montré que les triterpènes augmentent la sucrosité des vins et spiritueux vieillissant en barrique (Marchal *et al.*, 2011), et que des polyphénols tels que les lignanes (Marchal *et al.*, 2015; Winstel & Marchal, 2018) ou les coumarines (Winstel *et al.*, 2020), accentuent l'amertume de ces boissons alcoolisées.

Parmi les composés phénoliques qui composent les eaux-de-vie de Cognac, les tanins du bois sont les seuls tanins présents dans les eaux-de-vie. Il s'agit des ellagitanins *C*-glucosidiques, extractibles prédominants du bois de chêne. Cette famille de composés a fait l'objet d'un certain nombre d'études dans le vin rouge (Chira & Teissedre, 2013c; García-Estévez *et al.*, 2010; González-Centeno *et al.*, 2016) concernant leurs effets sur la santé, leur contribution à la couleur des vins, ou encore leurs propriétés sensorielles. Ces dernières suggèrent que cette famille de composés participe aux sensations d'astringence et à l'amertume des vins (Chira *et al.*, 2020a) et spiritueux (Glabasnia & Hofmann, 2006, 2007). Il est également avéré que ces composés subissent des transformations au cours du vieillissement. Ils seraient ainsi extraits du bois lors des premiers mois, et dégradés rapidement (Viriot *et al.*, 1993). Sachant que les eaux-de-vie présentent une teneur élevée en alcool et que les ellagitanins *C*-glucosidiques sont susceptibles de s'hydrolyser (Quideau *et al.*, 2005a), de s'oxyder (Fujieda *et al.*, 2008) ou de participer à des réactions chimiques avec d'autres composés (Jourdes *et al.*, 2011), il est fortement probable que des molécules encore inconnues dérivées de ces composés soient présentes dans cette matrice. En outre, les concentrations en ellagitanins *C*-glucosidiques sont impactées par différents facteurs intrinsèques au bois, et par les processus de fabrication de la barrique. En effet, les ellagitanins étant des composés thermosensibles, ils peuvent être dégradés par la chauffe. L'utilisation de barriques dans l'élaboration du Cognac implique alors des processus de tonnellerie qui vont avoir un impact sur la qualité du Cognac. Le séchage des merrains sur le parc à bois avant la fabrication de la barrique, et la chauffe de cette dernière, également appelée chauffe aromatique ou bousinage, sont des étapes clés pour l'obtention de barriques de qualité et donc de Cognac de qualité. Bien plus que de simples containers, les barriques participeront à la couleur, au bouquet et à la structure des eaux-de-vie.

Aux vues des propriétés chimiques et sensorielles des ellagitanins *C*-glucosidiques citées précédemment, et du manque de connaissances actuel sur la présence, l'identification et le comportement de ces composés dans les eaux-de-vie de Cognac, l'objectif global de cette thèse est donc d'approfondir les connaissances, à la fois sur la composition tannique des eaux-de-vie mais également sur l'impact sensoriel des ellagitanins *C*-glucosidiques dans cette matrice. Plus précisément, l'influence des processus de tonnellerie sur le comportement et le devenir des ellagitanins *C*-glucosidiques sera étudié. De nouvelles molécules d'ellagitanins présentes dans cette matrice seront également recherchées pour une meilleure compréhension du vieillissement des eaux-de-vie. Enfin, leur impact organoleptique, jamais démontré jusqu'à présent, sera également évalué.

Aucune méthode n'étant disponible à ce jour pour la quantification des différents ellagitanins *C*-glucosidiques dans les eaux-de-vie, le premier chapitre sera donc consacré à la mise au point et à la validation d'une méthode de dosage des ellagitanins *C*-glucosidiques dans le bois de chêne et dans les eaux-de-vie de Cognac permettant ainsi d'avoir un outil validé d'identification et de quantification de ces composés pour la suite du travail.

Le deuxième chapitre aura pour objectif d'étudier l'impact des processus de tonnellerie (séchage et chauffe) sur le comportement des ellagitanins *C*-glucosidiques, de même que la gestion du vieillissement dans les chais, qui consiste dans le Cognaçais à réaliser des rotations d'eaux-de-vie dans les barriques. Pour cela, les ellagitanins *C*-glucosidiques seront identifiés et quantifiés dans les bois au cours du séchage, et dans les eaux-de-vie de Cognac lors du vieillissement en barrique. Pour une compréhension plus globale de l'impact de la chauffe de la barrique sur les eaux-de-vie de Cognac, l'étude sera complétée par le dosage des composés volatils du bois dans les eaux-de-vie lors du vieillissement.

Afin de compléter les analyses chimiques, le troisième chapitre sera axé sur la caractérisation sensorielle des eaux-de-vie vieilles dans des barriques fabriquées à différents niveaux de chauffe. Cet axe aura une visée pratique, à travers la dégustation de ces eaux-de-vie, qui permettra à plus long terme d'aider dans le choix des barriques à utiliser selon le type de Cognac désiré.

Enfin, le dernier chapitre de cette thèse consistera à rechercher des composés d'évolution des ellagitanins *C*-glucosidiques formés dans les eaux-de-vie de Cognac, permettant ainsi de mettre en évidence d'éventuelles transformations chimiques ayant lieu lors du vieillissement des eaux-de-vie en barrique. L'impact organoleptique des ellagitanins *C*-glucosidiques sera également recherché.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LE COGNAC : DE SON HISTOIRE A SON ELABORATION

1.1. La naissance du Cognac

Le Cognac est un prestigieux spiritueux français majoritairement produit en Charente et Charente-Maritime, car quelques communes de Dordogne et des Deux-Sèvres font également partie de l'appellation. Au XV^e siècle, les vignobles du cognaçais produisaient une grande quantité de vin qui partait à l'export par bateau, mais le vin, de titre alcoolique peu élevé, vieillissait mal lors du voyage. La distillation est alors apparue, pour la première fois au XV^e siècle, afin de permettre une meilleure conservation. C'est finalement au XVII^e siècle que la double distillation fait son apparition, afin de faire voyager les produits sous forme d'eau-de-vie. C'est également lors du transport que l'on s'est aperçu que les eaux-de-vie vieillissaient mieux en fûts de chêne. Cependant, au XIX^e siècle, naissent de nombreuses maisons de Cognac qui expédient leurs produits dans des bouteilles et non dans des fûts, ce qui entraîne l'apparition du marché de l'embouteillage. C'est un cognaçais, Mr Delage qui est à l'origine de la fabrication industrielle des flacons en verre, qui jusqu'alors étaient moulés manuellement. Au XX^e siècle, une législation relative au Cognac se met en place avec initialement la délimitation de la zone géographique de production de Cognac (1909), suivie de la reconnaissance du Cognac comme étant une appellation d'origine contrôlée (1936), et enfin, la délimitation régionale des « crus » (1938) (Faith & Guillard, 2016).

1.2. Le terroir cognaçais

Aujourd'hui, la région de Cognac compte 75 000 ha de vigne, et représente 10 % du vignoble français. Sa région est délimitée par six crus :

(1) La Grande Champagne représente 13 200 ha de vignes, avec un sol argilo-calcaire. Elle comprend la production de vin blanc pour l'élaboration du cognac. Des eaux-de-vie très fines et très légères, au bouquet à dominante florale sont obtenues (Faith & Guillard, 2016). Leur pleine maturité est atteinte après un long vieillissement en fûts de chêne.

(2) La Petite Champagne au sol argilo-calcaire compte 15 200 ha de vignes. Elle possède les mêmes caractéristiques que la Grande Champagne mais sans son extrême finesse, avec toutefois des senteurs plus florales (Faith & Guillard, 2016).

(3) Les Borderies, quant à elles, comptent 4000 ha. Les eaux-de-vie de ce cru sont rondes, bouquetées, douces, au parfum de violette et d'iris (Faith & Guillard, 2016). Leur qualité optimale est atteinte après une maturation plus courte que les deux précédentes.

(4) Les Fins Bois entourent les trois crus précédents et occupent 31 200 ha. Les eaux-de-vie obtenues sont rondes, souples, et le bouquet rappelle le raisin pressé.

(5) Les Bons Bois sont représentés par 9 500 ha, avec un sol sableux.

(6) Enfin, les Bois ordinaires font moins de 1 000 ha, avec des sols à dominante sableuse. Les eaux-de-vie de ce cru vieillissent vite et ont un goût caractéristique du terroir (Figure 1).

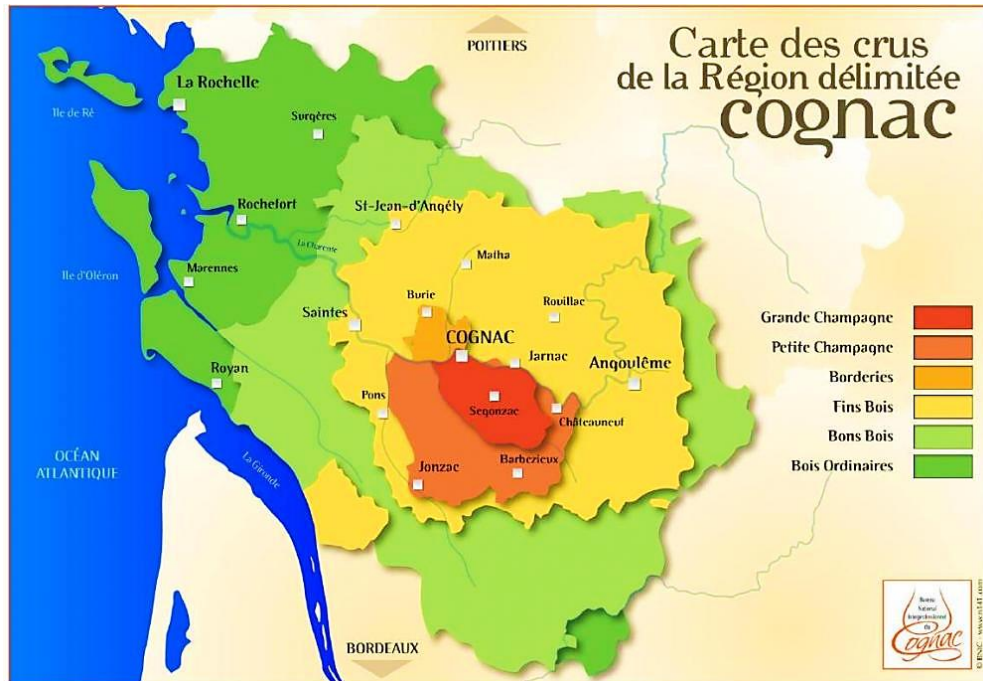


Figure 1. Carte des crus de Cognac (BNIC).

La délimitation des crus de Cognac a été créée par Henri Coquand, professeur de géologie. Il étudia les sols et terroirs de la région de Cognac au XIX^e siècle. Il valida, à l'aide d'un dégustateur, un classement des sols selon le type d'eau-de-vie qu'ils pourraient produire. En effet, en 1858, la carte des crus n'était pas tout à fait celle d'aujourd'hui, les Borderies étaient classées « Bois supérieurs », et deviendront Borderies à la fin du XIX^e siècle (Faith & Guillard, 2016).

1.3. La vinification des vins de Cognac

Pour pouvoir être doublement distillés, les vins de Cognac doivent être issus de cépages blancs à faibles teneurs en sucres et à l'acidité élevée. En effet, au moment de leur distillation, les vins doivent présenter un titre alcoométrique compris entre 7 et 12 % (v/v) pour ne pas excéder 72,4 % (v/v) à l'issue de la double distillation. Colombard, folle blanche, montils, sémillon, représentaient une large diversité de cépages répondant aux critères de la distillation charentaise. Cependant, après la crise du phylloxéra au XIX^e siècle, le vignoble cognaçais est

passé de 280 000 ha à 40 000 ha. C'est donc au XX^e siècle que les cépages porte-greffes américains apparaissent, ces derniers étant résistants à la maladie. Le cépage prédominant devient alors l'ugni blanc. Il représente aujourd'hui à lui seul 98 % de l'encépagement du vignoble. La folle blanche, malgré sa forte sensibilité à la pourriture grise une fois greffée, est un cépage survivant, qui représente aujourd'hui moins de 1 % du vignoble. Un nouveau cépage, le folignan, intégré dans le décret de l'appellation depuis 2005, est issu d'un croisement entre l'ugni blanc et la folle blanche, mais ne peut représenter que 10 % de l'encépagement du vignoble.

La majorité de la récolte se fait avec la machine à vendanger, généralement au mois de septembre lorsque le raisin arrive à maturité. Le pressurage est effectué juste après les vendanges dans des pressoirs traditionnels horizontaux ou dans des pressoirs pneumatiques. Le jus obtenu est mis à fermenter immédiatement. La fermentation alcoolique, obligatoire, est assurée par des souches sélectionnées de levure *Saccharomyces cerevisiae* et permet de transformer les sucres du moût en alcool. La fermentation malolactique, quant à elle, est optionnelle. Cette dernière permet la transformation de l'acide malique en acide lactique par la bactérie *Oenococcus oeni*. Des vins aux alentours de 9 % d'alcool (v/v) sont obtenus, permettant ainsi une concentration optimale des substances aromatiques et une acidité élevée indispensable à la conservation du vin.

1.4. La double distillation charentaise

Une fois les vins obtenus, la double distillation nommée « Distillation charentaise » est effectuée par l'intermédiaire d'un alambic charentais en cuivre (Figure 2). Elle représente une des étapes clés de l'élaboration du Cognac. La distillation se déroule selon le principe d'une double distillation, car elle repose sur deux chauffes. Le processus de distillation tout comme l'ensemble du processus d'élaboration du Cognac est régi par des règles inscrites dans le cahier des charges de l'AOC Cognac homologué par le décret n° 2015-10 du 7 janvier 2015 modifié par arrêté du 8 novembre 2018, publié au Journal Officiel de la République Française (JORF) du 14 novembre 2018. La capacité de la chaudière ne doit pas dépasser les 30 hL soit 25 hL de charge totale lors de la seconde chauffe. En revanche, une chaudière pouvant atteindre les 140 hL peut être utilisée pour la première chauffe.

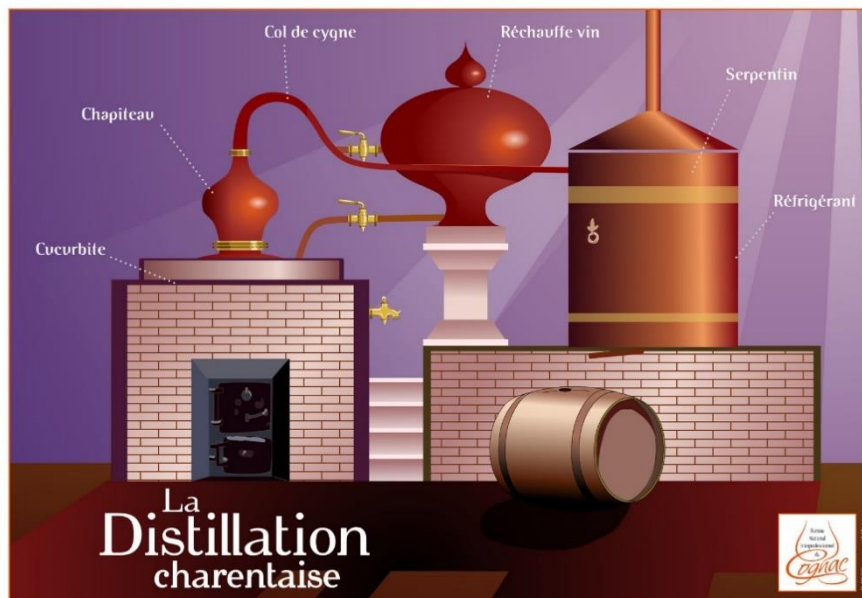


Figure 2. Schéma d'un alambic charentais (BNIC).

Le vin non filtré au préalable est introduit dans la chaudière et porté à ébullition. Les vapeurs d'alcool s'accumulent dans le chapiteau, passent par le col de cygne puis dans le serpentin (Figure 2). Ces vapeurs se condensent au contact du réfrigérant puis forment un liquide trouble titrant entre 27 et 32 % (v/v) : il s'agit du « brouillis ». Cette première étape constitue la première chauffe. Le brouillis est redistillé, c'est ce que l'on nomme « la bonne chauffe ». Les premières fractions qui s'écoulent sont les plus riches en alcool (de 78 à 82 % (v/v)), elles représentent 1 à 2 % du volume et sont nommées les « têtes ». Celles-ci sont écartées, et cette opération délicate fait diminuer progressivement la teneur en alcool. Après les « têtes », « le cœur » (de 78 à 60 % (v/v)) est récupéré, il s'agit de l'eau-de-vie claire et limpide qui donnera le Cognac. Lorsque l'alcoomètre atteint 60 % (v/v), le distillateur arrête de recueillir la bonne chauffe, c'est la « coupe », et il poursuit la distillation afin d'épuiser l'alcool dans l'alambic. Il obtient alors les « secondes ». Les « têtes » et « secondes » pourront être de nouveau distillées avec le prochain « brouillis ».

1.5. Le vieillissement des eaux-de-vie de Cognac

Une fois le processus de distillation terminé, les jeunes eaux-de-vie de Cognac sont placées en fûts de chêne pour un minimum de trois ans afin d'atteindre leur maturité grâce aux échanges gazeux au travers du bois ainsi qu'aux apports des composés du bois. Cette technique va permettre un transfert modéré de l'oxygène et donc un contact indirect entre l'eau-de-vie et l'air. L'élevage en fûts de chêne permet l'obtention du bouquet aromatique du Cognac et lui

confère un aspect visuel particulier grâce au transfert des molécules du bois vers l'eau-de-vie, notamment le transfert de certaines molécules aromatiques et composés phénoliques. Le Cognac prend alors le meilleur du chêne, et va simultanément perdre de son volume et de sa force alcoolique au contact de l'air. Cette perte représente environ vingt millions de bouteilles par an et se nomme « la Part des Anges ». Ces vapeurs d'alcool nourrissent un champignon microscopique, *Torula Compniacensis* qui recouvre et noircit les bâtiments de la région. Une fois la maturité atteinte pour les eaux-de-vie les plus anciennes, celles-ci séjourneront seules dans un chai obscur, et seront transférées dans de vieux fûts de chêne nommés « fûts roux » afin de stopper l'apport de bois. C'est lors de cette phase que l'accumulation de composés solubles est limitée, tout en permettant les phénomènes d'oxydation (Litchev, 1989). Les eaux-de-vie seront ensuite placées dans des bonbonnes de verre appelées « Dame-Jeanne ». Elles pourront alors rester des décennies à l'abri de l'air sans se modifier. C'est le maître de chai qui par le biais de la dégustation, percevra le potentiel d'une eau-de-vie et pourra la sélectionner pour un assemblage en fonction de la qualité du produit attendu. Un cognac présentera alors une mention de vieillissement nommée compte d'âge (comptée à partir du 1^{er} avril de l'année suivant la vendange) qui dépendra de la plus jeune eau-de-vie de l'assemblage. L'eau-de-vie est alors affectée au compte 0 le 1^{er} avril qui suit sa récolte, et change de compte d'âge chaque année par la suite. La mention « VS » (Very Special) indique un compte d'âge 2 minimum, la mention « VSOP » (Very Superior Old Pale) désigne un compte d'âge 4 minimum alors que les mentions « XO » (Extra Old) ou « Hors d'âge » indiquent un compte d'âge 10 minimum.

2. LE BOIS DE CHENE EN TONNELLERIE

2.1. Historique

Ce sont les celtes qui ont inventé les tonneaux en bois. Au troisième siècle avant J.-C., ces tonneaux ont progressivement remplacé les amphores comme principaux récipients pour le transport du vin (Laubenheimer, 2013). L'utilisation du chêne pour la production de tonneaux est répandue depuis environ 2000 ans, et les premiers écrits sur son utilisation remontent à l'Empire romain. Au fil du temps, les viticulteurs ont découvert que le vieillissement du vin et des spiritueux en fûts de chêne n'était pas seulement pratique, mais qu'il améliorait aussi leur qualité à travers leur apparence, leurs saveurs et sensations en bouche. Le fût de chêne est donc devenu un élément indispensable de l'élaboration des vins et spiritueux lors du vieillissement (Sun, 2013), notamment grâce à ses propriétés mécaniques, physiques et chimiques uniques qui en font un outil indispensable pour l'obtention de produits de qualité.

2.2. Origine géographique des chênes

Le chêne est un Angiosperme appartenant à la famille des Fagacées (*Fagaceae*). Environ 600 espèces du genre *Quercus* sont distribuées dans le monde entier, notamment dans les zones tempérées de l'hémisphère nord (Vivas, 2002).

Les trois espèces de chêne les plus utilisées en tonnellerie sont le chêne pédonculé (*Quercus robur* Linneo, 1753), le chêne sessile ou rouvre (*Quercus petraea*, Mattuschka et Liebein, 1784), tous deux d'origine européenne, et le chêne blanc d'Amérique (*Quercus alba*, Linneo, 1753) (Feuillat *et al.*, 1999).

Le chêne pédonculé ou *Q. robur* couvre une grande partie de l'Europe, et se trouve tout au plus à une altitude de 1600 m. Le chêne sessile ou *Q. petraea* couvre également une grande partie de l'Europe, mais moins étendue que pour le chêne pédonculé. Il est souvent situé dans le nord de l'Europe, et se trouve jusqu'à une altitude maximale de 1600 m (Deret-Varcin, 1983; Keller, 1987, 1992). Ces deux espèces de chêne possèdent une quantité importante de tanins : acides ellagique et gallique (tanins hydrolysables), ainsi que des tanins condensés.

Le chêne Américain *Q. alba* est situé dans la moitié Est des Etats-Unis et a une composition différente des espèces françaises.

Dans le cas du Cognac, les fûts proviennent majoritairement d'un mélange de *Q. robur* et *Q. petraea* originaires de France, et plus particulièrement issus des forêts du Limousin ou du Tronçais.

2.3. Le processus de fabrication de la barrique

2.3.1. Sélection des bois

Le bois destiné à la tonnellerie doit répondre à plusieurs critères qui vont rendre la sélection de l'arbre en amont importante. En effet, il est primordial de s'assurer que la partie du chêne qui sera utilisée pour la fabrication de la barrique ne comporte pas de défauts majeurs. Plus précisément, il est nécessaire qu'il soit dépourvu de nœuds, d'attaques fongiques ou de dégâts liés à des attaques d'animaux. Les nœuds pourraient être responsables d'un manque d'étanchéité de la barrique, et les attaques fongiques pourraient entraîner une désorganisation de l'ultrastructure du bois ou des modifications dans sa couleur. Les dégâts dus aux insectes ou oiseaux entraîneraient une perte de qualité du bois et diminueraient ainsi la part de bois utilisable en tonnellerie, qui ne représente déjà pas une grande partie, étant donné que seul le premier tiers de l'arbre est généralement utilisé.

2.3.2. Le fendage

Lorsque les arbres sont sélectionnés en forêt, ils sont abattus et débités de façon à former les grumes. Ces dernières vont être sciées à leur tour afin de former les billons de longueur fixe (généralement 1,20 mètres de long). Cette longueur est légèrement supérieure à celle d'un merrain (0,90-1,15 m) pour prévenir le retrait du bois lors de l'étape de séchage, ainsi que la formation d'éventuelles fentes. C'est l'étape de fendage qui va permettre l'obtention des merrains.

2.3.3. Le séchage

Le séchage est une étape importante du processus de fabrication des barriques. En effet, après le fendage, le bois possède un taux d'hygrométrie élevé (65 à 75 %) qui va entraîner des modifications dans la dimension des merrains et des modifications chimiques. Le séchage sert alors à diminuer le taux d'hygrométrie des merrains jusqu'à leur faire atteindre 14 à 18 % d'humidité, afin d'obtenir une stabilisation du bois de la barrique.

Il existe deux types de séchage des merrains : le séchage naturel et le séchage artificiel. Ce dernier, moins répandu, consiste à utiliser une étuve ventilée et thermorégulée aux alentours de 30-40 °C. Cependant, le processus de séchage a un fort impact sur la qualité des vins et spiritueux obtenus par la suite, car il détermine grandement ce que le bois libère au cours du vieillissement. Dans le cas du séchage artificiel, des niveaux plus importants de coumarines et d'ellagitanins seraient libérés (Zamora, 2019).

Le séchage naturel quant à lui est très répandu. Il consiste à empiler les merrains sur des piles surélevées, et à les stocker dans des parcs à bois, à l'air libre, durant 12 à 36 mois. L'empilement des merrains est réalisé de façon à laisser des espaces entre les pièces de bois et entre les différentes piles, pour une meilleure circulation de l'air et donc un séchage plus efficace (Figure 3).



Figure 3. Empilement des merrains lors du séchage sur un parc à bois.

Lors des 6 premiers mois, le séchage est le plus rapide. C'est aussi durant cette période que le lessivage de composés chimiques hydrosolubles par la pluie ou par arrosage artificiel sera le plus important. Après les six premiers mois de séchage, le taux d'hygrométrie des merrains a déjà fortement diminué, et se situe à moins de 35 %. Il en résulte que le bois devient alors moins sujet au lessivage. Les fibres du bois se sont resserrées, et laissent moins passer l'eau. C'est à partir de ce moment que le séchage en profondeur, plus lent, va commencer. Cette étape va engendrer des modifications chimiques telles que la diminution de la teneur en composés phénoliques par le lessivage, mais également des modifications de structure caractérisées par des réactions d'oxydation, de polymérisation, ou de condensation avec des polymères de la paroi du bois, et catalysées par les microorganismes ou l'oxygène de l'air (Chatonnet *et al.*, 2010; Chatonnet & Dubourdieu, 1998b; Joseph & Marche, 1972).

2.3.4. Le montage de la coque

Une fois les merrains arrivés à maturité, ils sont transformés en douelles, afin de donner au bois la forme légèrement arquée, permettant l'assemblage de la barrique. Pour cela, les merrains sont légèrement écourtés aux deux extrémités, et les étapes de jointage et fléchage permettront d'assurer des joints étanches entre les futures douelles. Le dolage et l'évidage sont les deux étapes qui donneront à la douelle sa forme concave (partie extérieure) et convexe (partie intérieure) afin de préparer la barrique au cintrage. Si les merrains n'étaient pas transformés, ils

casseraient plus facilement lors de l'assemblage. Les douelles sont alors assemblées par groupe de 25 à 30, et placées dans un premier cercle métallique sur leur partie supérieure.

2.3.5. Le cintrage et la chauffe

Le cintrage permet l'obtention de la forme définitive de la barrique. En chauffant, le bois va perdre de sa rigidité, et pourra être plus facilement modulable. Pour cela, le bois est amené progressivement à une température de surface proche des 110 °C, et une température en profondeur de 70 à 80 °C, en étant légèrement humidifié tout au long du processus afin de ne pas brûler en surface. Le cabestan (treuil à axe vertical) et le cercle métallique de la base peuvent alors être positionnés.



Figure 4. Chauffe aromatique de la barrique.

Une fois le cintrage réalisé et la barrique ayant pris sa forme définitive, une nouvelle chauffe est appliquée au fût, la chauffe aromatique, dite aussi « bonne chauffe » ou « bousinage » (Figure 4). Il s'agit d'une étape majeure de la fabrication de la barrique, car elle est responsable de la formation de nombreuses molécules aromatiques par dégradation thermique de composés du bois, mais aussi d'une dégradation de certains composés phénoliques tels que les ellagitanins. Elle module la qualité des vins et spiritueux tant par un apport de couleur que par l'obtention de caractères organoleptiques spécifiques. Cette chauffe aromatique varie en fonction de chaque tonnelier, qui peut jouer à la fois sur la température de chauffe et sur sa durée.

2.3.6. Les fonds et cercles

Les fonds, composés de cinq à huit pièces, sont montés à partir de merrains raccourcis suite à la présence de défauts, comme précédemment cités, et donc non utilisables pour la coque de la

barrique. Afin d'assurer l'étanchéité de la barrique, les fonds sont fixés à la coque à l'aide d'un mélange de farine, de cendres et d'eau sur la base d'une pâte à pain (Vivas, 2002). Cependant, de nouvelles colles sans farine sont aujourd'hui utilisées en raison des allergies au gluten. Des cercles en fer sont enfin placés sur la coque de la barrique afin de protéger ses extrémités, de resserrer les douelles et de bien maintenir le jointage. Ils la protègent également contre les chocs.

Afin de finaliser la barrique, l'étanchéité de cette dernière est testée : c'est l'échaudage. De l'eau chaude est ajoutée à l'intérieur et la barrique est placée sous pression pour révéler des fuites s'il y en a. Lorsque la barrique est remplie de liquide, le taux d'hygrométrie du bois remonte aux alentours de 30 %, entraînant alors un gonflement de la barrique qui lui assure son étanchéité. Une fois qu'elle ne présente aucun défaut, elle est poncée, et diverses décorations peuvent être ajoutées à la demande des clients (marquage à chaud des barriques avec le nom du tonnelier, l'année de fabrication, la chauffe utilisée, le nom du château, ...).

3. LA COMPOSITION CHIMIQUE DU BOIS DE CHENE

Le bois est un matériau composite complexe principalement constitué de cellulose (40-50 % du bois sec), d'hémicellulose (25-35 % du bois sec), de lignine (20-30 % du bois sec) et de composés de bas poids moléculaire (5-10 % du bois sec) qui représentent les composés extractibles du bois (Monties, 1980). Dans les parois des cellules du bois, les microfibrilles de cellulose sont orientées de façon axiale pour donner au bois sa solidité. Les hémicelluloses et la lignine sont des agents solidifiant entre ces microfibrilles de cellulose (Fengel & Wegener, 2011; Sjostrom, 1993).

3.1. La composition macromoléculaire

3.1.1. La cellulose

La cellulose est le composant polymérique principal de la paroi cellulaire du bois, constitué d'unités anhydro- β -D-glucopyranose (Chen *et al.*, 2017) liées par des liaisons glycosidiques (1 \rightarrow 4) pour former des chaînes polymériques linéaires de masse moléculaire élevée avec plus de 10 000 résidus de glucose.

Les groupes hydroxyles dans la cellulose forment des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires. Des faisceaux de molécules de cellulose sont ainsi agrégés pour former des microfibrilles partiellement cristallines entourées d'hémicelluloses amorphes et de lignine. Les microfibrilles de cellulose sont orientées dans différentes directions dans les différentes couches de paroi de fibres et contiennent des régions cristallines.

3.1.2. Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides ramifiés et amorphes, constitués de différentes unités de monosaccharides avec certaines fractions de désoxyhexoses et d'acides hexauroniques. Les constituants principaux des hémicelluloses sont cinq sucres naturels : glucose, mannose, galactose, xylose et arabinose (Chen *et al.*, 2017). La composition et la quantité d'hémicelluloses dans les bois résineux et dans les bois durs ne sont pas les mêmes. Les résineux contiennent des galactoglucomannanes qui sont les principaux hémicelluloses dans ces types de bois (autour de 20 %) et les glucuronoxylanes sont les principaux hémicelluloses des bois durs (15 à 30 %) (Fengel & Wegener, 1989; Sjostrom, 1993). Le bois de chêne contient donc majoritairement des glucuronoxylanes dont la structure est basée sur une chaîne de résidus β -D-xylopyranose liés en (1-4) et substitués en O-2 par des résidus d'acide (4-O-méthyl)- α -D-glucuronique (environ un acide pour dix résidus xylose). De plus, la plupart

des résidus β -D-xylopyranose sont acétylés en O-2 et/ou O-3 (environ sept groupements acétyles pour dix résidus xylose).

3.1.3. La lignine

La lignine est le second biopolymère le plus abondant dans le monde végétal après la cellulose. Ce sont des polymères hétérogènes complexes composés d'unités phénylpropane, ou plus précisément des polymères d'alcools *trans*-coniféryl, *trans*-sinapyl et *trans*-*p*-coumaryl (Glasser & Glasser, 1974), qui sont appelés les précurseurs de la lignine. Ces unités de phénylpropane sont réunies par de l'éther ou des liaisons C-C. Environ 50 à 60 % de toutes les liaisons de la lignine sont des liaisons β -O-4 aryl éther. La lignine dans les résineux est principalement composée d'unités de gâiacyle (G), alors que dans les bois durs elle est constituée de motifs G et syringyl (S) dans un rapport variant de 4 : 1 à 1 : 2 pour les deux unités monomères (Monties, 1987). La lignine étant un polymère hydrophobe, elle contribue à la perméabilité de la barrique et confère au bois de chêne sa résistance aux contraintes mécaniques, mais aussi aux dégradations chimiques et biochimiques.

3.2. Les extractibles

Bien que ces molécules de faible poids moléculaire soient présentes en très faibles quantités dans le bois sec, elles possèdent une influence significative sur les propriétés du bois. Ces molécules peuvent notamment être extraites lors du vieillissement des vins et spiritueux en barriques. De nombreuses familles chimiques comme les lignanes, les coumarines, les lactones, les dérivés furaniques, les phénols simples, les triterpènes et les tanins hydrolysables, peuvent jouer un rôle important sur les modifications organoleptiques des vins et des eaux-de-vie.

3.2.1. Les lignanes

Les lignanes sont une classe de métabolites secondaires des plantes dérivés de la dimérisation oxydative de deux ou plusieurs unités phénylpropanoïdes. Ils sont présents dans les racines, les graines, les fruits et les parties en bois des plantes vasculaires (Ayres *et al.*, 1990). Le (\pm)-lyonyrésinol est le lignane le plus connu du bois de chêne. Il a été trouvé dans un premier temps dans le duramen de bois de chêne pédonculé (Nabeta, 1987; Puech *et al.*, 1988). Il a également été décrit comme étant le lignane le plus abondant du chêne sessile (Marchal *et al.*, 2015).

Les lignanes sont des composés phénoliques qui participent à la croissance et au développement des plantes. En plus de leur fonction dans la nature, les lignanes possèdent des activités biologiques significatives, telles que des activités anti-cancéreuses, anti-inflammatoires ou

encore anti-microbiennes (Saleem *et al.*, 2005; Tibiriçá, 2001). Ces composés sont extraits lors de l'élevage en barriques des vins et spiritueux, comme le lyonirésinol dont les propriétés gustatives dans les vins et spiritueux ont été démontrées. En effet, ce composé contribue à l'amertume des vins et des eaux-de-vie (Marchal *et al.*, 2015; Winstel & Marchal, 2018).

3.2.2. Les coumarines

Le bois de chêne contient également des coumarines aglycones, qui sont dérivées des benzo- α -pyrones (Harborne, 1999). Ces molécules, répandues dans le règne végétal, résultent de la lactonisation de l'acide *ortho*-hydroxycinnamique (Bourgau *et al.*, 2006). Elles sont classées en quatre catégories : les coumarines simples, formées d'un noyau benzénique et d'un noyau lactonique (benzo- α -pyrone) ; les furocoumarines, formées d'un noyau furane et d'un noyau de coumarine simple ; les pyranocoumarines, formées d'un noyau pyranique et d'un noyau coumarinique simple ; et les phénylcoumarines, formées à partir d'un noyau phényle et d'un noyau coumarinique simple. La scopolétine est la plus abondante des coumarines présentes dans le bois de chêne. Elle a été retrouvée dans les eaux-de-vie de Cognac à des concentrations moyennes allant de 25 à 250 $\mu\text{g/L}$. La contribution de six coumarines à l'amertume des vins et des spiritueux *via* des interactions perceptives a été démontrée (Winstel *et al.*, 2020).

3.2.3. Les lactones

La β -méthyl- γ -octalactone est la lactone majoritaire du bois de chêne sessile. Identifiée pour la première fois dans le whisky par Suomalainen & Nykänen (1970), puis dans le bois de chêne par Masuda & Nishimura (1971), la β -méthyl- γ -octalactone également nommée whisky-lactone est un des principaux composés aromatiques du bois de chêne extraits dans les vins et les eaux-de-vie vieilles en fûts (Guymon & Crowell, 1972; Kepner *et al.*, 1972; Otsuka *et al.*, 1974). Ce composé provient de la déshydratation des acides glycosylés présents dans le bois qui libère les isomères de la whisky-lactone par le biais de la chauffe ou par hydrolyse enzymatique (Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006; Hayasaka *et al.*, 2007; E. Masson, Baumes, Le Guernevé, *et al.*, 2000). Sur les quatre isomères de la β -méthyl- γ -octalactone, seules les formes 3*S*, 4*S* (*cis*) et 3*S*, 4*R* (*trans*) (Figure 5) sont présentes dans le bois de chêne (G. Masson, Guichard, *et al.*, 1995; Masuda & Nishimura, 1981).

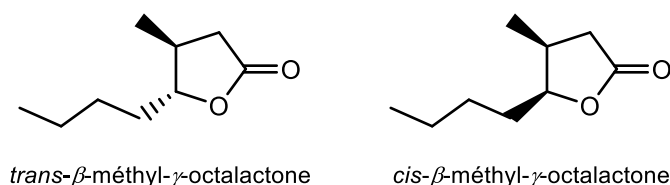


Figure 5. Structure de la *trans*-β-méthyl-γ-octalactone et de la *cis*-β-méthyl-γ-octalactone.

Les teneurs en whisky-lactone varient beaucoup d'un arbre à l'autre, mais elles varient surtout entre les espèces de chêne. On peut notamment retrouver dans des chênes après séchage 6,24 µg/g de whisky-lactone dans l'espèce *Q. robur* (chêne français), alors que des concentrations beaucoup plus élevées seront retrouvées dans les espèces *Q. petraea* (chêne français) et *Q. alba* (chêne américain) (19,84 µg/g et 35,95 µg/g respectivement) (Cadahía *et al.*, 2003). Le ratio entre la forme *cis* et la forme *trans* varie également beaucoup. En effet, l'isomère *cis* est présent aux alentours de 50 % dans les espèces *Q. robur* et *Q. petraea* alors qu'il représentera 90 % chez *Q. alba* (Cadahía *et al.*, 2003). La β-méthyl-γ-octalactone présente une odeur caractéristique de noix de coco. L'isomère *cis* a un seuil de détection 10 fois supérieur à l'isomère *trans* dans une matrice à 30 % d'alcool et de 5 fois dans les vins blancs et rouges (Abbott *et al.*, 1995).

3.2.4. Les dérivés furaniques

On retrouve principalement trois dérivés furaniques qui sont formés grâce à la dégradation des polysaccharides du bois de chêne durant la chauffe de la barrique (Chatonnet, 1999; Cutzach *et al.*, 1997; Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006) : le furfural, qui est formé à partir de l'hémicellulose ; l'hydroxyméthyl-5-furfural (5HMF) et le méthyl-5-furfural (5MF) qui eux dérivent de la thermodégradation de la cellulose (Figure 6).

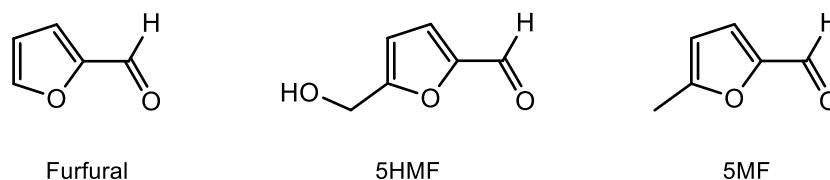


Figure 6. Structure des trois dérivés furaniques.

Ces composés ont des arômes caractéristiques d'amande grillée, de torréfié et de fumé (Guillén & Manzanos, 2002).

3.2.5. Les phénols et les aldéhydes phénoliques

Les phénols sont des composés formés par la thermodégradation de la lignine du bois de chêne, et ont généralement un impact positif sur l'arôme des vins et des spiritueux grâce à leurs notes vanillées, épicées, fumées. Dans cette famille de composés, on retrouve notamment le gäiacol et l'eugénol. Les aldéhydes phénoliques ont été identifiés pour la première fois dans les années 1950 (Pearl & Darling, 1957), et sont formés principalement de deux composés hydroxy-benzoïques (vanilline et syringaldéhyde) et de deux composés hydroxy-cinnamiques (coniféraldéhyde et sinapaldéhyde) (Seikel *et al.*, 1971). Une méthyoxylation sur les noyaux phénols forme des structures de types gäiacyles alors qu'une diméthoxylation crée une structure de type syringyle (Figure 7). Ces composés ont plutôt un caractère vanillé, fumé. Ils apparaissent principalement après l'étape de chauffe du bois par libération des composés volatils depuis leurs précurseurs (Waterhouse *et al.*, 2016).

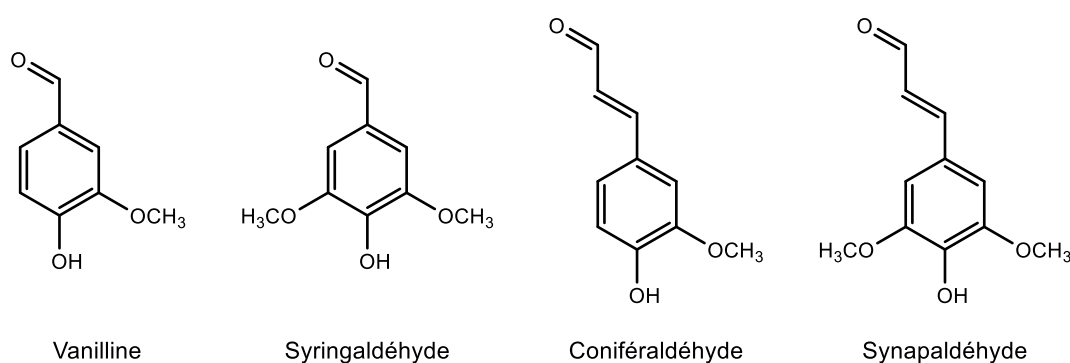


Figure 7. Structure des quatre aldéhydes phénoliques du bois de chêne.

Les acides phénols libres peuvent provenir de la voie de biosynthèse des composés phénoliques (acide ellagique, acide gallique) (Chen, 1970; Scalbert *et al.*, 1986; Seikel *et al.*, 1971), de l'oxydation des aldéhydes phénols (Puech, 1981) ou de la dégradation des chaînes polysaccharides liées ou non à la lignine (acide férulique) (Arramon, 2001). L'acide férulique serait un des précurseurs de la scopolétine (coumarine précédemment décrite). Trois autres acides phénols libres sont identifiables dans le bois frais : l'acide vanillique, l'acide syringique et l'acide sinapique. Ces composés présents dans le bois ou formés par dégradation de la lignine n'ont pas d'odeur, mais peuvent interagir avec des composés phénoliques du vin et des eaux-de-vie durant le vieillissement en barrique.

3.2.6. Les triterpènes

On retrouve également dans le bois de chêne des triterpènes, caractérisés par leur enchaînement linéaire ou cyclique d'unités isopréniques. Parmi les triterpènes glucosylés et galloylés, une nouvelle famille a été identifiée, les quercotriterpénosides (QTT) (Arramon *et al.*, 2002; Gammacurta *et al.*, 2019, 2020; Marchal *et al.*, 2011). Les QTT I, II et III contribueraient à la sucrosité des vins et un dérivé glycosylé, l'acide bartogénique (Glu-BA), présentait un goût amer dans les vins (Marchal *et al.*, 2016). En se basant sur les concentrations de ces quatre composés, un indice triterpénique a été créé. Celui-ci permet notamment de différencier les espèces de chêne sessile (*Q. petraea*) et pédonculé (*Q. robur*). Il a été démontré que le chêne sessile serait plus riche en QTTs qui apportent de la douceur alors que le chêne pédonculé serait plus riche en Glu-BA qui apporte de l'amertume aux vins et spiritueux (Marchal *et al.*, 2016).

3.2.7. Les tanins du bois de chêne

Les principaux tanins du bois sont les tanins hydrolysables comprenant les gallotanins et les ellagitanins. 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 (Haslam & Cai, 1994; Quideau *et al.*, 2010; Quideau & Feldman, 1996). Ces composés constituent l'une des principales classes de polyphénols portant des groupements polyhydroxyphénylés issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils représentent les extractibles non-volatils majoritaires du cœur du chêne. De plus, ce sont des composés solubles dans les solutions hydroalcooliques, c'est donc pour cela qu'ils sont extraits lors du vieillissement des vins et spiritueux en barrique. Toutefois, de faibles teneurs en tanins condensés et plus particulièrement en proanthocyanidines ont été trouvées dans les bois de chênes sessile et pédonculé (Scalbert *et al.*, 1988).

4. LES ELLAGITANINS DU BOIS DE CHENE

4.1. Structure et localisation des ellagitanins C-glucosidiques du bois de chêne

Les ellagitanins C-glucosidiques possèdent une structure spécifique composée à la fois d'une chaîne de glucose ouverte estérifiée en position 4 et 6 par une unité hexahydroxydiphényle (HHDP) et une unité nonahydroxyterphényle (NHTP) estérifiée en position 2, 3 et 5. Ces deux unités sont liées par une liaison C-glycoside entre l'atome de carbone-1 du noyau de glucose à chaîne ouverte et la position 2 de l'unité trihydroxyphényle (Okuda *et al.*, 1993) (Figure 8).

La vescalagine (**1**) et son épimère en C-1 la castalagine (**2**), sont les premiers ellagitanins C-glucosidiques à avoir été isolés et caractérisés il y a une cinquantaine d'années à partir du châtaignier (*Castanea sativa*) et du chêne (*Quercus sesseliflora*) (Mayer *et al.*, 1967, 1969, 1971). Six autres ellagitanins furent isolés plus tard à partir des deux mêmes espèces de bois : les dimères roburine A (**5**) et roburine D (**6**), les monomères glycosylés grandinine (**3**) et roburine E (**4**), et les dimères glycosylés roburine B (**7**) et roburine C (**8**) (Figure 8) (Du Penhoat *et al.*, 1991; Penhoat & Veronique, 1991). Les structures de ces composés ont fait l'objet de plusieurs révisions afin de déterminer exactement la chiralité axiale du groupe NHTP et la stéréochimie du C1 de la chaîne ouverte du glucose (Nonaka *et al.*, 1990; Nonaka *et al.*, 1987). Les dernières versions des structures de la vescalagine et de la castalagine ont été élucidées par Matsuo *et al.* (2015).

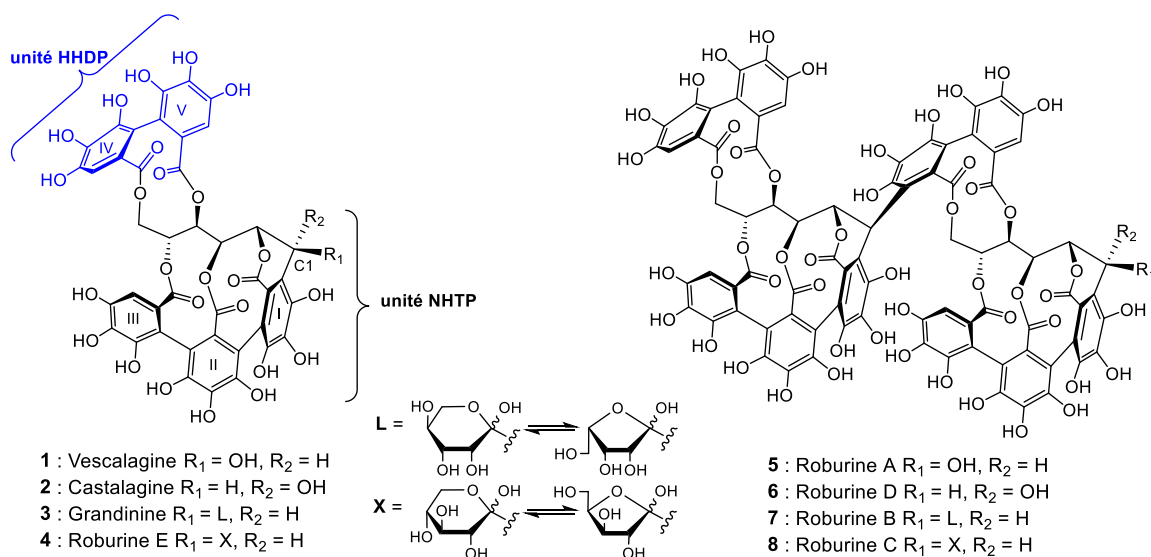


Figure 8. Structure des huit principaux ellagitanins C-glucosidiques retrouvés dans le bois de chêne.

Les ellagitanins C-glucosidiques sont généralement les tanins hydrolysables majoritaires du bois de chêne contrairement aux gallotanins, à l'exception de l'espèce de chêne *Q. rubra*. En

effet, ils 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 ou duramen, partie interne du bois qui ne comporte plus de cellules vivantes (Figure 9). Ils sont retrouvés dans les vacuoles des parenchymes et les rayons ligneux (Masson *et al.*, 1994).

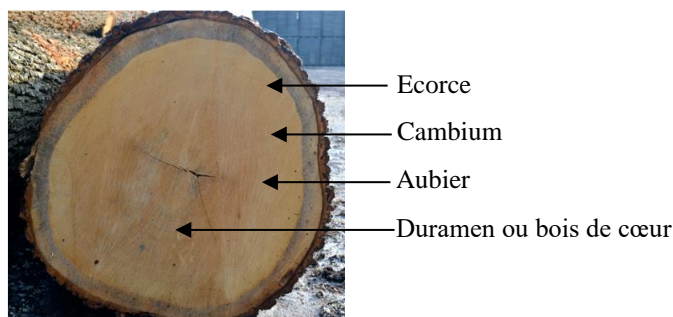


Figure 9. Coupe transversale d'un tronc de chêne (Petit, 2013).

4.2. Biosynthèse des ellagitanins C-glucosidiques

La voie de biosynthèse des ellagitanins C-glucosidiques se déroule en deux parties. Tout d'abord, la galloylation enzymatique du D-glucopyranose par l'acide gallique libre aboutit à la formation du 1-O-galloyl- β -D-glucopyranose. Une transgalloylation enzymatique successive conduit au 1,6-O-digalloyl- β -D-glucopyranose, au 1,2,6-O-trigalloyl- β -D-glucopyranose, au 1,2,3,6-O-tétragalloyl- β -D-glucopyranose et enfin au 1,2,3,4,6-O-pentagalloyl- β -D-glucopyranose (Figure 10). Le 1,2,3,4,6-O-pentagalloyl- β -D-glucopyranose est considéré comme le précurseur des gallotannins et des ellagitanins (Grundhöfer *et al.*, 2001; Niemetz & Gross, 1998, 2003; Quideau & Feldman, 1996).

Le précurseur des gallotannins est obtenu grâce à une galloyltransférase qui estérifie l'un des phénols des groupes galloyl par l'acide gallique libre (Figure 10). Le 1,2,3,4,6-O-pentagalloyl- β -D-glucopyranose conduit aux ellagitanins par déshydrogénation oxydative et couplage entre deux unités galloyl proches. La tellimagrandine II, le tout premier ellagitanin, est alors formé (Figure 10). En 2003, l'enzyme responsable du couplage oxydatif qui entraîne la formation de la liaison biaryle carbone-carbone entre deux unités galloyles voisines a été isolée (Niemetz & Gross, 2003).

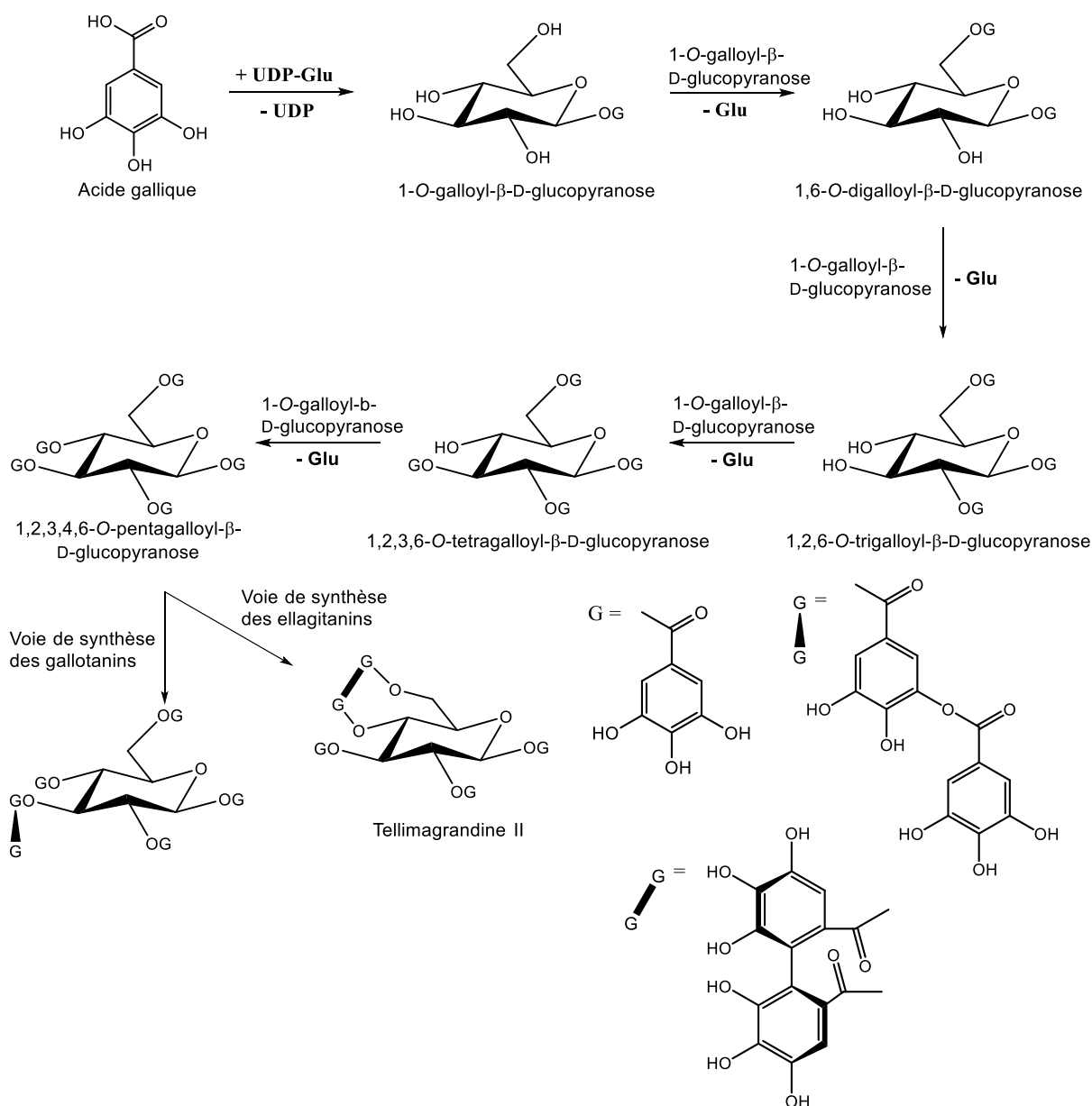


Figure 10. Voie de synthèse des précurseurs de gallotanins et d'ellagitanins.

La vescalagine et la castalagine sont formées à partir de la tellimagrandine II. En effet, une nouvelle liaison biaryle entre deux unités galloyles voisines est formée et conduit à la casuarictine et à la potentilline. Une hydrolyse en C1 de l'unité galloyle de ces molécules conduit aux pédonculines P1 et P2. L'ouverture du cycle des D-glucopyranoses P1 et P2 conduit à la formation de la 5-desgalloylstachyurine et à celle de la casuariine. La galloylation de l'alcool secondaire, formé par l'ouverture du cycle du D-glucopyranose, conduit à la formation de la stachyurine et de la casuarinine, qui, en formant une nouvelle liaison biarylique entre l'unité galloyl libre et le HHDP inférieur, permet la formation de la vescalagine et de la castalagine (Figure 11) (Okuda *et al.*, 1980).

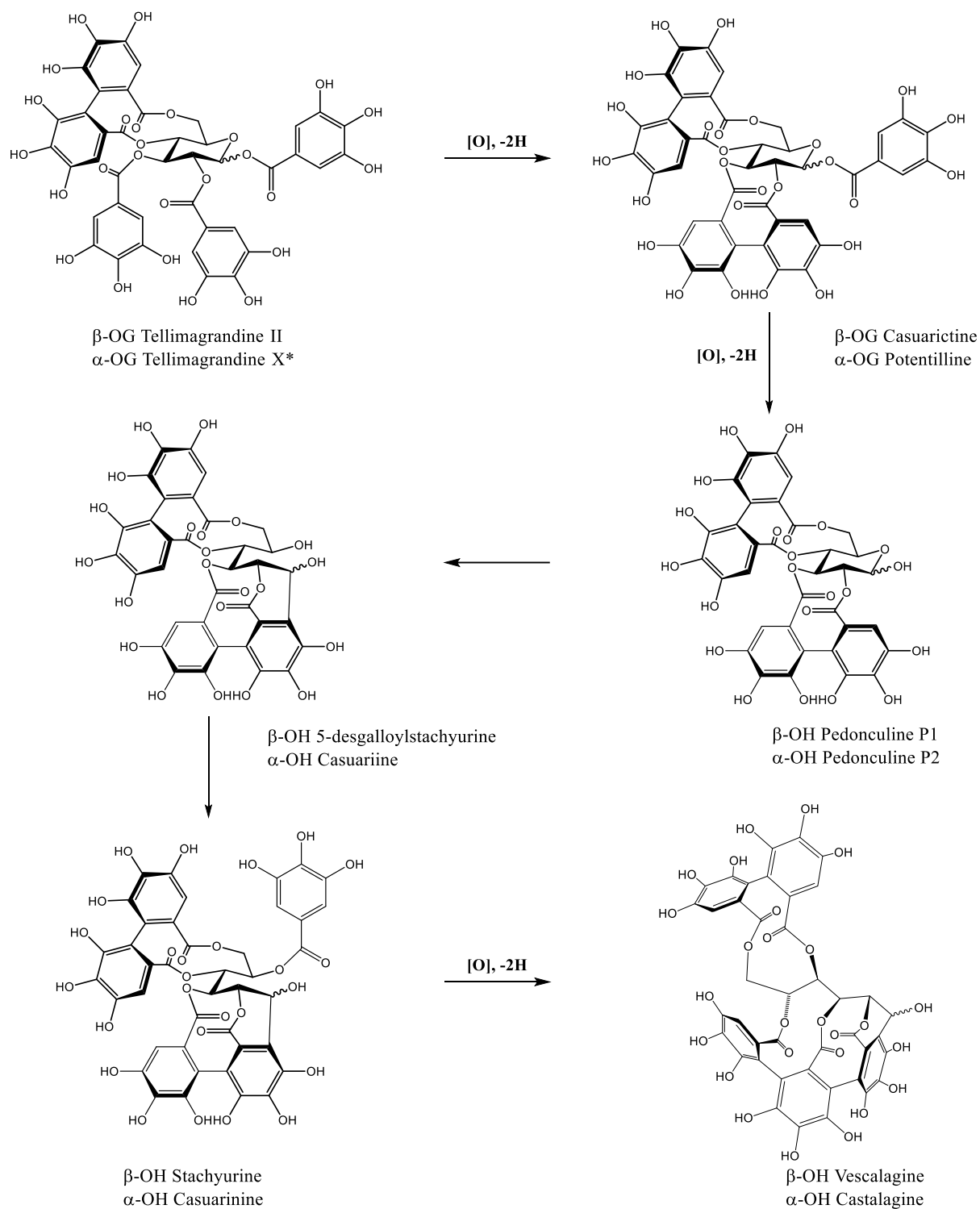


Figure 11. Voie de synthèse de la vescalagine et de la castalagine à partir de la tellimagrandine II.

5. LES TENEURS EN ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES INFLUENCEES PAR DIFFERENTS FACTEURS

Les ellagitanins *C-glucosidiques* représentent une part importante des extractibles du cœur du chêne et sont retrouvés à des concentrations comprises entre 4 et 120 mg/g de bois sec (Prida *et al.*, 2006). Cependant, la teneur en ellagitanins dans le bois dépend de nombreux facteurs : 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 la hauteur dans le tronc (Fernandez de Simon *et al.*, 1998; Masson *et al.*, 1994; Masson, Moutounet, *et al.*, 1995; Mosedale *et al.*, 1999), mais aussi le processus de fabrication de la barrique (le type, la durée et la puissance de la chauffe) influent sur la composition en ellagitanins (Chira & Teissedre, 2013c, 2015; Doussot *et al.*, 2002; González-Centeno *et al.*, 2016; Masson, Moutounet, *et al.*, 1995).

5.1. L'espèce de chêne

La vescalagine et la castalagine représentent 40 à 60 % des ellagitanins dans les espèces de chêne *Q. robur* et *Q. petraea* (Masson *et al.*, 1994; Masson, Moutounet, *et al.*, 1995). Cependant, cette composition peut être très variable d'une espèce de chêne à une autre. En effet, *Q. alba* ne présente que les monomères vescalagine et castalagine et le dimère de la vescalagine, la roburine A (Vivas, 2002), ainsi que des teneurs en ellagitanins nettement inférieures (3,5 à 13,1 mg/g de bois sec) à celles des espèces européennes (Martínez-Gil *et al.*, 2018). De leur côté, les deux espèces de chêne européennes présentent des propriétés mécaniques similaires, toutefois le chêne pédonculé (11,2 à 143,3 mg/g) est généralement plus riche en ellagitanins que le chêne sessile (5,9 à 100,7 mg/g) (Fernández de Simón *et al.*, 1999; Prida *et al.*, 2006), mais une distinction claire entre les deux espèces ne peut être établie (Doussot *et al.*, 2002; Masson, Moutounet, *et al.*, 1995; Prida *et al.*, 2006). En effet, la variabilité inter-individuelle est supérieure à la variabilité inter-espèce entre les chênes *Quercus robur* et *Quercus petraea* (Prida *et al.*, 2006).

5.2. L'origine géographique et la variabilité interindividuelle du bois

Les forêts de chênes français et américains constituent la quintessence des sources de bois pour la fabrication des barriques. Cependant, la loi de l'offre et de la demande a récemment attiré l'attention des tonneliers sur la recherche de bois de qualité provenant d'origines géographiques alternatives. Au cours des dernières décennies, les chênes pédonculés et sessiles de différents pays européens (Hongrie, Moldavie, Pologne, Roumanie, Russie, Slovaquie, Espagne et Ukraine

entre autres) ont été évalués et acceptés favorablement pour la maturation de vins de qualité (Martínez-Gil *et al.*, 2018). Même si les teneurs en ellagitanins sont fréquemment plus proches de celles du chêne français, les vins qui en résultent présentent des teneurs en ellagitanins à mi-chemin entre le chêne français et le chêne américain, et des caractéristiques similaires ou intermédiaires à celles des vins élevés dans des origines de bois de chêne traditionnelles (Chira *et al.*, 2015; Prida *et al.*, 2006). Le bois non traité de *Q. robur* et *Q. petraea* provenant de Moldavie, d'Ukraine et de Roumanie a été comparé à ses homologues français, révélant une teneur en ellagitanins similaire (Martínez-Gil *et al.*, 2018) ou légèrement inférieure (Prida *et al.*, 2006) pour les échantillons de chêne d'Europe de l'Est.

Des différences ont plus particulièrement été trouvées pour les chênes pédonculés et sessiles lorsque deux origines géographiques (française et espagnole) ont été comparées (Fernández de Simón *et al.*, 1999). En outre, ces auteurs ont mis en évidence des différences de teneurs en ellagitanins plus importantes entre les populations d'une même espèce de chêne d'origine géographique différente qu'entre celles d'espèces différentes au même endroit.

Au sein de la même espèce de chêne, Doussot *et al.* (2000) ont étudié différents sites français pour *Q. robur* et *Q. petraea*, suggérant que les différences entre les forêts d'un même pays, même si elles sont présentes, sont moins marquées que prévu en raison de la grande variabilité interindividuelle. Les mêmes auteurs ont confirmé par la suite que l'effet de l'espèce sur la teneur en ellagitanins restait significatif tout au long des processus de séchage et de chauffe, contrairement à l'impact de la provenance (Doussot *et al.*, 2002).

Les principaux facteurs responsables de ces différences entre les arbres sont l'âge et le grain du bois de chêne. Le grain est d'une grande importance pour le choix du bois de chêne destiné à la fabrication des barriques, car il influe sur la composition chimique du bois. Plus la taille du grain est élevée, plus la quantité d'ellagitanins libérés est importante et plus cette libération est rapide (Jordão *et al.*, 2007). En outre, le chêne pédonculé possède un grain plus épais et le chêne sessile un grain plutôt fin (Feuillat *et al.*, 1992).

5.3. Les processus de tonnellerie

Le bois frais présente un pourcentage élevé d'humidité (jusqu'à 70 %), un excès de constituants phénoliques et un déficit en composés aromatiques. Ainsi, un conditionnement du bois en tonnellerie devient plus que nécessaire pour atteindre un certain niveau de qualité organoleptique. Plus précisément, les étapes de séchage et de chauffe vont modifier à la fois la structure et la composition chimique du bois, le rendant ainsi apte à une utilisation œnologique. Le type et la durée de ces opérations de tonnellerie vont définir les teneurs en ellagitanins dans

les barriques. Il a été noté que les différences quantitatives entre les espèces de chêne diminuent souvent avec les processus de séchage et de chauffe (Zhang *et al.*, 2015).

5.3.1. Le séchage du bois

Parallèlement à la déshydratation, la contraction des fibres et la maturation chimique du bois se produisent au cours du séchage. Ces processus entraînent une baisse marquée de la concentration en ellagitanins comme l'ont observé pour la première fois Chatonnet *et al.* (1994) pour des merrains de *Q. petraea* français pendant cinq ans de séchage naturel à l'air libre. Ce phénomène se produit principalement dans la couche de bois la plus superficielle (0-2 mm), mais dans une moindre mesure et de manière uniforme, il se produit également dans le bois interne. Plus précisément, environ 50 % et 90 % de la teneur en ellagitanins du bois frais ont été éliminés, respectivement, après trois et cinq ans de séchage. Des résultats similaires (~70 % de perte d'ellagitanins) ont été obtenus pour des merrains de *Q. petraea* et *Q. alba* séchés pendant 3 ans (Martínez *et al.*, 2008). Cette réduction des ellagitanins est généralement plus importante au cours de la première étape du séchage, en particulier pour les monomères castalagine et vescalagine, mais reste significative au-delà de la première année de séchage. Le Floch (2015) a mis en évidence une diminution de 58 % de la concentration restante en ellagitanins des merrains de chêne sessile français juste au cours de la deuxième année de séchage. De même, Doussot *et al.* (2002) ont constaté une variation négative de 42 % du niveau total d'ellagitanins entre le bois frais et le bois séché pendant 16 mois, les espèces *Q. robur* et *Q. petraea* considérées ensemble.

5.3.2. La chauffe de la barrique

La chauffe de la barrique induit aussi des modifications chimiques importantes sur les composés du bois, notamment une baisse des teneurs en ellagitanins.

Pendant la chauffe, la vescalagine est réduite en déoxyvescalagine, tandis que son diastéréoisomère, la castalagine, est principalement oxydée en déhydrocastalagine. Des dérivés déoxy- et déhydro- similaires ont été trouvés pour les roburines A et D, respectivement (Glabasnia & Hofmann, 2007). Cette décomposition des ellagitanins et par conséquent leur impact sensoriel à la fois sur les vins et les spiritueux, peut être modulé à la fois par la température et la durée de la chauffe de la barrique (Chira *et al.*, 2015). Les tonnelleres proposent une gamme large et croissante de possibilités de chauffe pour tous leurs produits en bois de chêne affectés au vieillissement des boissons alcoolisées.

Lorsque la température et la durée de chauffe augmentent, la dégradation thermique des ellagitanins est accentuée. La comparaison de produits alternatifs en bois de chêne de *Q. petraea* et *Q. alba* avec différents niveaux de chauffe a révélé une teneur en ellagitanins 1,5 fois plus élevée pour la chauffe légère que pour la chauffe moyenne, et, à son tour, cette dernière a montré des quantités d'ellagitanins entre 1,4 et 2,3 fois plus élevées que la chauffe forte (Jordão *et al.*, 2012).

Le taux de dégradation des ellagitanins dans le bois séché pendant la chauffe est très variable selon l'espèce de chêne, le type de produit (barrique ou copeaux) et l'intensité de la chauffe. Selon la littérature, jusqu'à 96 % de la teneur restante en ellagitanins présente dans le bois sec peut être éliminée par la chauffe (Cadahía, Varea, *et al.*, 2001; Doussot *et al.*, 2000; Jordão *et al.*, 2017). Les diminutions les plus importantes ont été observées dans les douelles moyennement chauffées (160-170 °C, 30-35 min) de *Q. robur* et *Q. petraea* (87 % et 96 % de l'élimination des ellagitanins respectivement) (Doussot *et al.*, 2002), et dans les douelles moyennement plus chauffées (200 °C, 140 min) de *Q. petraea*, *Q. alba* et *Q. humboldtii* (83-93 % de l'élimination des ellagitanins) (Martínez-Gil *et al.*, 2019). Les ellagitanins monomères et dimères semblent diminuer dans les mêmes proportions quelles que soient la provenance du bois et l'essence de chêne (Cadahía, Varea, *et al.*, 2001; Martínez-Gil *et al.*, 2019).

En outre, de nouveaux composés chimiques sont générés pendant la chauffe de la barrique. Récemment, de nouveaux composés, avec des ions quasi-moléculaire [M-H]⁻ de m/z 1055,0631 (composé A) et de m/z 1011,0756 (composé B) ont été identifiés à la suite de la thermodégradation des ellagitanins. Le composé A correspond à la castacrénine E qui est le produit d'oxydation de la castacrénine D, une vescalagine avec un cycle aromatique supplémentaire (acide gallique) sur le C-1 par une liaison C-C. Les niveaux de ces composés, trouvés dans des conditions expérimentales et recherchés plus avant dans le bois de chêne commercial, dépendent à la fois de la taille du bois de chêne et de la méthode de chauffe (Chira *et al.*, 2020a).

6. EVOLUTION DES ELLAGITANINS DANS LES SPIRITUEUX

L'évolution des ellagitanins dans les spiritueux a fait l'objet de quelques études mais il y a toutefois peu de données récentes sur ce sujet. La quantification des ellagitanins totaux a souvent été estimée par hydrolyse acide qui permet de mesurer l'acide ellagique formé après clivage et réorganisation spontanée du groupement 4,6-hexahydroxydiphénol des ellagitanins. C'est un phénomène qui intervient spontanément dans le vin et qui se remodèle dans des conditions thermiques et acides importantes (Viriot *et al.*, 1993).

Viriot *et al.* (1993) ont étudié l'évolution des ellagitanins totaux dans les Cognacs au cours du vieillissement. Il apparaît que la concentration maximale de ces composés a été trouvée dans les premières années de vieillissement. Les ellagitanins solubles semblent être hydrolysés avec la formation d'acide ellagique. En effet, la concentration en ellagitanins à un an de vieillissement était de 10 mg/L en équivalent (eq) vescalagine pour 7 mg/L d'acide ellagique. Cette valeur augmente jusqu'à dix ans pour atteindre la concentration la plus élevée (31 mg/L eq vescalagine), équivalente à celle de l'acide ellagique au même âge, puis la teneur en ellagitanins diminue jusqu'à trente ans (4 mg/L eq vescalagine) alors que l'acide ellagique atteint sa concentration maximale (55 mg/L). Parmi tous les polyphénols présents dans le cognac, les ellagitanins sont les seuls qui sont largement transformés au cours du vieillissement car ils sont impliqués dans des réactions d'hydrolyse, de réduction ou d'oxydation. Une autre étude plus récente (Canas *et al.*, 2008) a montré que seuls quatre des huit ellagitanins C-glucosidiques ont été identifiés et quantifiés dans des brandy portugais. Il s'agissait des monomères (vescalagine et castalagine) et des monomères glycosylés (grandinine et roburine E). Cette étude appuie les résultats présentés par Viriot *et al.* (1993), car elle démontre que l'absence des dimères et dimères glycosylés d'ellagitanins dans les eaux-de-vie de vin vieilles peut résulter de leur dégradation thermique pendant la chauffe du bois (Chira & Teissedre, 2013a; Doussot *et al.*, 2002; Jordão *et al.*, 2007; Matricardi & Waterhouse, 1999; Sarni *et al.*, 1990), mais également que l'oxydation et l'hydrolyse des ellagitanins peuvent se produire pendant le vieillissement (Puech & Moutounet, 1992; Viriot *et al.*, 1993). En tenant compte de la teneur moyenne totale en ellagitanins solubles dans les cognacs (4-840 mg/L) (Viriot *et al.*, 1993) et dans les armagnacs (155-702 mg/L) (Puech *et al.*, 1985), les monomères glycosylés et la vescalagine quantifiés ici ne représentent que 0,03 %, et la castalagine 3 % des ellagitanins totaux. D'autres ellagitanins non identifiés sont donc susceptibles d'être extraits du bois dans l'eau-de-vie de vin et de contribuer davantage à la quantité totale. Jusqu'à présent, peu de tanins solubles ont été trouvés dans l'eau-de-vie de vin âgé, ce qui contraste avec le nombre croissant de tanins et de

composés dérivés détectés dans le vin lors du vieillissement (Chassaing et al., 2015; Jourdes et al., 2011; Quideau et al., 2005a). Des études dans le vin ont notamment montré que des réactions d'oxydation entre les ellagitanins et l'éthanol pouvaient avoir lieu lors du vieillissement en barrique, comme pour le cas de l'oxydation de la vescalagine, conduisant ainsi à la formation de la β -1-O-éthylvescalagine (Quideau et al., 2005a). Cette dernière peut également s'hydrolyser au cours du temps pour former la β -1-O-éthylvescaline (Figure 12), comme la vescalagine et la castalagine entraînent respectivement la formation de la vescaline et la castaline.

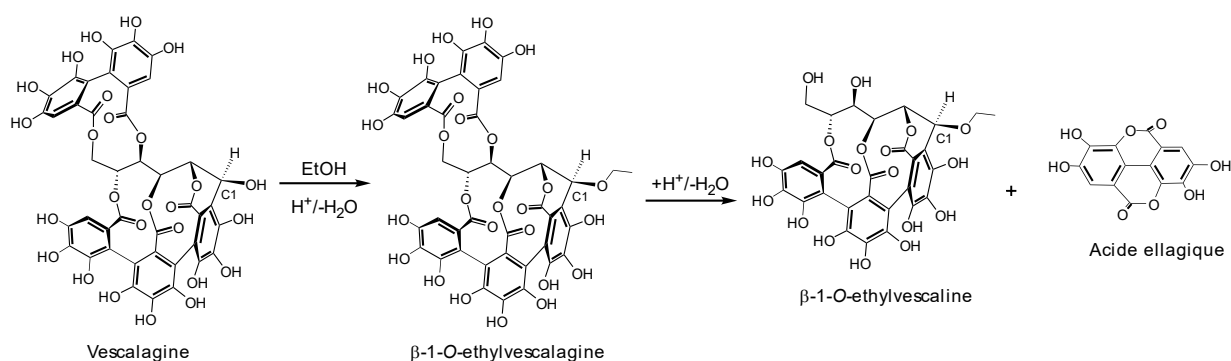


Figure 12. Oxydation de la vescalagine suivie de l'hydrolyse de la β -1-O-éthylvescalagine.

Puech *et al.* (1999), s'étaient donc intéressés à l'évolution de la vescalagine et de la castalagine dans des solutions hydroalcooliques à 40 et 70 % (v/v) et avaient montré que ces composés étaient transformés au bout de quelques jours dans chacune des solutions hydroalcooliques, même si la cinétique de transformation des monomères était plus rapide à 70 % (v/v). Les résultats ont montré que des fragments éthoxy étaient additionnés aux ellagitanins, conduisant à la formation de structures hémiacétal et acétal (Puech *et al.*, 1999).

Plus récemment, de nouveaux ellagitanins d'évolution, les whisky tanins, produits par oxydation des ellagitanins du bois de chêne ont été isolés à partir du whisky japonais (Fujieda *et al.*, 2008). Le whisky tannin B, présentant un ion quasi-moléculaire de masse nominale m/z 977 ($[M-H]^+$) serait formé par oxydation régiosélective du cycle pyrogallol attaché au glucose C-1 de la castalagine, et par addition d'éthanol donnant lieu à un réarrangement cyclique. Le whisky tannin A présentant un ion moléculaire de m/z 675 ($[M-H]^+$) est le produit d'hydrolyse du whisky tannin B, obtenu par la perte de l'unité HHDP supérieure (qui par bislactonisation forme l'acide ellagique). Ces molécules nouvellement identifiées, n'ont à ce jour pas fait l'objet d'une quantification dans le whisky, et n'ont pas été identifiées dans d'autres spiritueux.

7. CONTRIBUTION QUALITATIVE DES ELLAGITANINS AUX SPIRITUEUX

7.1. Activité anti-oxydante

Les cellules peuvent être endommagées par le processus d'oxydation mis en jeu par les espèces réactives de l'oxygène (Fransen *et al.*, 2012), notamment les radicaux libres tels que le radical anion superoxyde, les radicaux hydroxyles, et les espèces radicalaires non libres telles que le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet. Ces processus d'oxydation sont considérés comme responsables des premiers stades de développement de nombreuses maladies comme le cancer, le diabète ou les maladies cardiovasculaires (Abdi & Ali, 1999; Abe & Berk, 1998). Cependant, il existe des antioxydants capables de protéger l'organisme contre ces dommages, que l'on retrouve dans de nombreux aliments.

Depuis quelques années, il a été démontré que des sources d'antioxydants sont présentes dans le vin et les spiritueux, notamment les polyphénols qui sont les principaux composés antioxydants (Alañón, Castro-Vázquez, Díaz-Maroto, Gordon, *et al.*, 2011; Alañón, Castro-Vázquez, Díaz-Maroto, Hermosín-Gutiérrez, *et al.*, 2011; Schwarz *et al.*, 2009). En effet, la structure chimique des composés phénoliques ainsi que leur concentration et leur état d'oxydation influencent leur activité antioxydante. Tous ces facteurs dépendent des conditions de vieillissement incluant les traitements de tonnellerie mais aussi l'espèce botanique, la taille et les conditions environnementales de stockage (Alañón, Castro-Vázquez, Díaz-Maroto, Hermosín-Gutiérrez, *et al.*, 2011; Canas *et al.*, 1999). En revanche, le niveau de chauffe de la barrique, qu'il soit léger, moyen ou fort, n'influe pas sur l'activité antioxydante dans l'eau-de-vie de vin vieillie (Canas *et al.*, 2008).

Par conséquent, de nombreuses études ont été menées concernant l'activité antioxydante dans les spiritueux et sa corrélation avec le contenu polyphénolique tels que l'acide gallique, l'acide ellagique, les acides phénoliques et les aldéhydes aromatiques extraits du bois (Koga *et al.*, 2011; Regalado *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2020) mais il y en a peu concernant les tanins hydrolysables. Cependant, Da Porto *et al.*, (2000) ont montré que le cognac présente des propriétés antiradicalaires intéressantes liées aux ellagitanins ainsi qu'à l'acide ellagique. Cela peut être dû aux structures des ellagitanins qui possèdent plusieurs fonctions hydroxyle en ortho. Cette position leur confère une plus grande capacité à donner un atome d'hydrogène (Nicoli *et al.*, 1999).

Une autre étude a comparé l'activité antioxydante de spiritueux provenant de différentes origines géographiques (Schwarz *et al.*, 2009). Il est apparu qu'un type de Brandy de Jerez et de Cognac présentaient une activité antioxydante plus élevée que l'Armagnac, les brandies

espagnols, français et sud-africains. Ce pouvoir antioxydant serait positivement corrélé au contenu polyphénolique comme l'ont montré Da Porto *et al* (2000). Vivas *et al.* (2013) ont également montré qu'il existe un effet synergique des ellagitanins car un mélange de ces tanins hydrolysables a une intensité de piégeage plus élevée que la molécule pure. Canas *et al.* (2008), au contraire, n'ont pas trouvé de corrélations significatives entre l'activité antioxydante et le contenu individuel ou total en ellagitanins. D'autres expériences seraient nécessaires pour étudier plus précisément l'évolution de l'activité antioxydante des spiritueux en fonction de la teneur en ellagitanins au cours du vieillissement.

7.2. Propriétés sensorielles des ellagitanins

La vue, l'odorat, le goût et le toucher sont quatre sens qui interviennent lors de la dégustation d'un produit. Le visuel représente le premier contact avec le produit. Il s'agit d'une information sensorielle traitée dix fois plus rapidement par le cerveau que les informations olfactives et gustatives. Le visuel du produit crée des attentes chez le consommateur car il donne des indications sur l'origine, le corps, l'âge, l'état des vins et spiritueux à travers leur brillance, leur limpidité ou encore leur robe. En 1838, Anthelme Brillat-Savarin, célèbre gastronome français, écrivait dans son ouvrage « La physiologie du goût » : « Sans la participation de l'odorat, il n'y a point de dégustation complète ». En effet, l'odorat permet la détection et la perception des substances odorantes par deux voies : la voie orthonasale et la voie rétronasale. La première, nommée aussi voie directe permet la perception d'une « odeur » (AFNOR, 2008) lorsque les composés passent par les narines lors de l'inspiration (Shepherd, 2006), et la seconde, également appelée voie indirecte, permet la perception des « arômes » (AFNOR, 2008) une fois le produit mis en bouche (Meierhenrich, 2006). Le goût, quant à lui, permet la perception des saveurs primaires telles que l'acide, sucré, salé, amer, ou umami procurées par la perception de produits sapides. Les composés sapides sont généralement des composés non-volatils solubles dans l'eau, libérés lors de la mise en bouche de la boisson. Cependant, les sensations de texture telles que le volume ou la sensation d'astringence sont également perçues lors de la mise en bouche. Enfin, la perception du froid, de la chaleur et du piquant sont des sensations somesthésiques qui peuvent être perçues autant au nez qu'en bouche.

Tous ces sens sont donc utilisés lors de la dégustation, et l'analyse sensorielle est l'outil qui permet d'évaluer les qualités organoleptiques d'un produit, c'est-à-dire les caractéristiques faisant intervenir les organes des sens de l'être humain. Elle permet de décrire et de quantifier de manière systématique l'ensemble des perceptions humaines (Lefebvre & Bassereau, 2003).

C'est grâce à cet outil que les propriétés sensorielles des composés du vin et des spiritueux peuvent être étudiées, et dans le cas présent, celles des ellagitanins.

L'apport en ellagitanins du bois et leur évolution dans les spiritueux permet une amélioration qualitative de ces boissons élevées en barrique, notamment d'un point de vue chromatique et gustatif.

7.2.1. La couleur

Le principal critère de qualité pour le consommateur est la couleur. C'est sur celui-ci que repose la première impression du produit, il est donc important de le maîtriser lors de l'élaboration des eaux-de-vie. La modification de la couleur des jeunes eaux-de-vie est la principale modification observable lors de l'élevage en barrique. L'extraction des composés du bois est responsable de la modification de la composante chromatique, qui passe alors de l'incolore pour une jeune eau-de-vie à une couleur topaze typique pour une eau-de-vie âgée au cours du vieillissement.

En effet, tout au long de cette période, la couleur évolue et les composés phénoliques extraits du bois augmentent dans l'eau-de-vie (Vivas *et al.*, 2020). Les composés colorés responsables à 90 % de la couleur à une absorption de 420 nm sont en majorité des ellagitanins polymérisés et des polyphénols de haut poids moléculaire (Vivas *et al.*, 2020). Les ellagitanins contribuent donc de façon importante à la couleur des eaux-de-vie (Vivas, Bourden-Nonier, *et al.*, 2020a). Cependant, sachant que la couleur évolue et que leur concentration diminue au cours de l'élevage en raison de différentes réactions citées précédemment, cela suggère que leur contribution à la composante chromatique des eaux-de-vie ne se limite pas à une simple diffusion de ces composés depuis la barrique (Vivas *et al.*, 2020). En effet, l'oxydation et l'hydrolyse des ellagitanins permet la formation de nouveaux polymères colorés participant à la formation et l'évolution de la couleur (Vivas *et al.*, 2004). Les caractéristiques chromatiques des eaux-de-vie sont très impactées par le type de bois utilisé pour fabriquer les barriques ou encore par la chauffe (Canas, Belchior, *et al.*, 2000).

L'évolution de la couleur d'une eau-de-vie de vin au cours de l'élevage est caractérisée par une baisse de la clarté et une augmentation de la saturation avec des teintes de rouge et de jaune (Schwarz *et al.*, 2011). Les termes « paille », « doré », « citrine », « topaze » ou encore « verdoyant » sont utilisés pour décrire la couleur des eaux-de-vie élevées en fût de chêne (Canas, Belchior, *et al.*, 2000).

7.2.2. Les propriétés gustatives : amertume et astringence

Le goût et les sensations perçues en bouche sont également des critères de qualité très importants. Il a été montré que les tanins étaient responsables des qualités organoleptiques des vins rouges en intervenant au niveau des sensations perçues en bouche (Arnold *et al.*, 1980). Cette famille de composés est couramment décrite comme contribuant à la structure et au corps des vins et spiritueux. Toutefois, les tanins condensés et les tanins hydrolysables dont font partis les ellagitanins, sont également connus pour leur contribution à l'amertume et à la sensation d'astringence.

L'amertume est l'une des cinq saveurs élémentaires citées précédemment (Peynaud & Blouin, 2013). Elle est ressentie tout de suite après ingestion du vin ou de l'eau-de-vie (Noble, 1994), toutefois, contrairement aux autres saveurs, l'amertume met plus de temps avant d'atteindre son intensité maximale (Jaggupilli *et al.*, 2016). La perception du goût amer varie d'un individu à l'autre, et dépend des récepteurs chimiques individuels de l'amertume (Roudnitzky *et al.*, 2015). Ce sont les molécules de faibles poids moléculaires et polaires qui causent majoritairement cette perception (Lea & Arnold, 1978) par interaction avec les parties lipidiques des papilles. Les récepteurs de l'amertume sont des protéines transmembranaires couplées avec des protéines G (GPCRs, glycoproteins coupled receptor) (Adler *et al.*, 2000). Aujourd'hui, 25 récepteurs du goût amer ont été identifiés (TAS2R) (Luo *et al.*, 2020), mais le nombre et la diversité des molécules amères laissent supposer l'existence d'une grande diversité de récepteurs et de plusieurs mécanismes de transduction de l'amertume (Andres-Barquin & Conte, 2004). Lors de la consommation d'alcool, les composés amers induisent un changement conformationnel des récepteurs TAS2R, qui après plusieurs réactions intracellulaires complexes vont conduire à la libération des neurotransmetteurs vecteurs de la perception (Deshpande *et al.*, 2010; Roper & Chaudhari, 2017).

L'astringence est définie par la sensation de sécheresse buccale qu'elle provoque. Longtemps, elle a été définie comme un goût, mais plusieurs études ont montré qu'il s'agissait en réalité d'une sensation tactile. En effet, elle n'est pas uniquement ressentie sur la langue, mais est perçue dans toute la cavité buccale (Bate-Smith, 1954). De plus, contrairement au goût qui a tendance à diminuer lors d'ingestions répétées (O'Mahony, 1986), l'astringence augmente de manière significative jusqu'à un phénomène de saturation (Guinard *et al.*, 1986). Plusieurs études ont confirmé la capacité des tanins à s'associer avec les protéines salivaires pour former des complexes par précipitation qui entraîneraient ces sensations d'astringence. Les mucines, protéines de la lubrification buccale n'étant plus actives, la viscosité de la salive diminue, ce

qui entraîne une sensation de rugosité (McManus *et al.*, 1981) et une augmentation des frictions (Bate-Smith, 1973; Green, 1993; Smith *et al.*, 1996). 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 d'une solution décrite comme astringente (Kallithraka *et al.*, 1998). Ces interactions sont rendues possibles par la présence de multiples parties riches en proline sur les protéines de la salive (Hagerman & Butler, 1981).

Deux études se sont intéressées au criblage des composés non-volatils extraits du bois de chêne dans des boissons alcoolisées afin d'identifier les composés clés du goût (Glabasnia & Hofmann, 2006, 2007). Un extrait hydroalcoolique a été préparé à partir de copeaux de bois de chêne. Les composés perçus comme ayant le plus fort impact sensoriel ont été purifiés et analysés. Il est apparu que les ellagitanins (vescalagine, castalagine, grandinine et roburines A-E) procuraient une sensation d'astringence et de l'amertume. Ces composés ont également été quantifiés dans le whisky et le vin rouge. La contribution sensorielle des ellagitanins C-glucosidiques a été évaluée dans ces matrices. Dans le whisky, la castalagine et la vescalagine étaient les ellagitanins prédominants avec des concentrations de 0,43 et 0,30 mg/L respectivement. Les monomères glycosylés étaient détectables à de faibles concentrations (0,11 et 0,08 mg/L) et les dimères et dimères glycosylés étaient tous présents sous forme de traces. Le calcul du rapport entre la concentration et la concentration seuil du goût a révélé qu'aucun de ces ellagitanins ne contribuait à l'amertume du whisky en raison de leur seuil de perception supérieur à leur concentration. Toutefois, l'utilisation d'un test de demi-langue réalisé à partir d'une solution aqueuse à pH 4,5 sont des conditions très éloignées de celles retrouvées dans les vins et spiritueux. Bien que les conditions expérimentales de cette étude présentent certaines limites, ces résultats sont parmi les seuls montrant les propriétés d'astringence et d'amertume des ellagitanins. De plus, une autre étude a montré la forte affinité entre deux ellagitanins monomères vescalagine et castalagine avec les protéines salivaires PRP. Ces affinités confirmeraient leurs propriétés astringentes, mais nécessiterait une étude plus approfondie dans une matrice vin et spiritueux (Soares *et al.*, 2019).

Lors du vieillissement en fûts de chêne, il est démontré que les ellagitanins natifs sont dégradés et transformés ; il est donc possible que d'autres composés d'ellagitanins aient des impacts sur l'amertume ou l'astringence des spiritueux. En effet, des études plus récentes ont permis de mieux caractériser l'impact organoleptique des ellagitanins dans les vins et notamment l'impact de deux composés formés par la chauffe du bois influençant l'astringence et l'amertume (Michel *et al.*, 2011; Chira & Teissedre, 2013b; Chira *et al.*, 2020b). Selon ces études, les

ellagitanins apporteraient également rondeur et amplitude au vin mis en contact avec le bois. C'est dans les spiritueux que le manque de connaissances est le plus important. Aucune autre publication ne rapporte à ce jour les effets directs ou indirects des ellagitanins dans les spiritueux sur leurs caractéristiques organoleptiques.

8. OBJECTIFS DE L'ETUDE

A la lecture des données scientifiques concernant les ellagitanins et leur évolution dans les spiritueux, il est clair qu'il existe encore aujourd'hui peu de données sur la composition non-volatile des eaux-de-vie de Cognac. De nombreux composés volatils ont déjà été identifiés dans cette matrice et l'impact organoleptique de composés non-volatils tels que les lignanes, les triterpènes ou encore les coumarines ont déjà fait l'objet de plusieurs recherches dans les eaux-de-vie de Cognac ces dernières années. En revanche, la composition en ellagitanins dans cette matrice chargée en alcool est encore peu connue, car les principales études à ce jour portent sur la composition phénolique totale ou sur les ellagitanins totaux retrouvés dans différents types de spiritueux. L'identification, la quantification et l'évolution de ces composés dans les eaux-de-vie de Cognac n'ont pas encore été étudiées, tout comme l'impact organoleptique de ces composés, qui est mal connu dans les vins et inconnu dans les eaux-de-vie de Cognac.

C'est pourquoi ce travail de thèse a pour objectif principal de déterminer la composition en ellagitanins dans les eaux-de-vie de Cognac, de comprendre leur évolution au cours du vieillissement, ainsi que d'étudier leur impact organoleptique. Sachant que les données scientifiques et techniques ont mis en lumière l'impact des processus de tonnellerie sur la composition en tanins hydrolysables lors du vieillissement des vins et de certains spiritueux, un autre objectif de la thèse est d'étudier l'influence du séchage, de l'arrosage et de la chauffe du bois de chêne sur la composition en ellagitanins et sur leur évolution au cours du vieillissement des eaux-de-vie.

Nous nous proposons ainsi de répondre aux objectifs selon quatre axes :

Dans un premier temps, une méthode de dosage des ellagitanins dans des extraits de bois de chêne et des eaux-de-vie par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse sera développée et validée au laboratoire, afin de pouvoir identifier et quantifier les ellagitanins dans les bois et les eaux-de-vie de Cognac.

Un deuxième axe sera consacré à l'identification des ellagitanins dans les bois et les eaux-de-vie de Cognac. Tout d'abord, l'influence du séchage et de l'arrosage des bois en tonnellerie sur l'évolution des ellagitanins C-glucosidiques sera recherchée. Dans un deuxième temps, différentes modalités de vieillissement des eaux-de-vie de Cognac seront étudiées et l'influence

de la chauffe de la barrique sur l'évolution des ellagitanins au cours du vieillissement des eaux-de-vie sera investiguée.

Un troisième axe s'intéressera à caractériser sensoriellement les eaux-de-vie de Cognac vieilles dans les fûts fabriqués à différentes chauffes afin de compléter les analyses chimiques, et d'avoir une meilleure connaissance de l'effet de la chauffe de la barrique sur les eaux-de-vie de Cognac.

Enfin, le dernier axe sera consacré à la recherche des composés d'évolution des ellagitanins au cours du vieillissement des eaux-de-vie de Cognac ainsi qu'à la recherche de leur impact organoleptique.

CHAPITRE 1 : DEVELOPPEMENT ET VALIDATION DE LA METHODE
DE DOSAGE DES ELLAGITANINS

1. INTRODUCTION

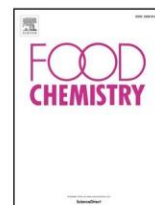
Avant de commencer l'étude de la composition en ellagitanins dans les bois et les eaux-de-vie de Cognac, il était nécessaire de mettre au point une méthode de dosage de ces composés afin de voir s'ils étaient présents et identifiables dans les eaux-de-vie de Cognac. Etant donné qu'aucune méthode de dosage des ellagitanins n'existait pour cette matrice, il a fallu en développer une et la valider afin de pouvoir poursuivre notre étude.

En effet, il était déjà possible de quantifier les ellagitanins dans les vins rouges et dans le bois de chêne, mais comme énoncé précédemment, la majorité des études existantes mesuraient la quantité totale d'ellagitanins par hydrolyse acide dans les spiritueux. Une étude a quantifié les ellagitanins monomères dans les brandy (Canas *et al.*, 2008) mais les dimères et les dimères glycosylés d'ellagitanins C-glucosidiques n'ont encore jamais été détectés dans les eaux-de-vie de Cognac. De plus, étant donné que ces molécules sont structurellement proches, il est difficile de les quantifier en UV car des co-élutions peuvent être retrouvées, limitant ainsi leur quantification.

Ainsi, une méthode de dosage des ellagitanins par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse (triple-quadrupôle) a été développée et validée au laboratoire.

2. ARTICLE : VALIDATION OF A MASS SPECTROMETRY METHOD TO IDENTIFY AND QUANTIFY ELLAGITANNINS IN OAK WOOD AND COGNAC DURING AGING IN OAK BARRELS

Cette méthode a fait l'objet d'une publication scientifique intitulée « Validation of a mass spectrometry method to identify and quantify ellagitannins in oak wood and cognac during aging in oak barrels ». Cet article a été soumis le 29 mai 2020 dans le journal Food Chemistry puis accepté et publié le 29 septembre 2020.



Validation of a mass spectrometry method to identify and quantify ellagitannins in oak wood and cognac during aging in oak barrels

Mathilde Gadrat^{a,b}, Joel Lavergne^b, Catherine Emo^b, Pierre-Louis Teissedre^a, Kleopatra Chira^{a,*}

^a Unité de recherche Œnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon France

^b Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France



ARTICLE INFO

Keywords:

Oak wood
Cognac "eau-de-vie"
Ellagitannins
LC-QQQ

ABSTRACT

Ellagitannins are the main extractible phenolic compounds in oak wood; the monomers vescalagin and castalagin, lyxose/xylose-bearing monomers grandinin and roburin E, dimers roburins A and D and lyxose/xylose-bearing dimers roburins B and C are the principal ones. These compounds are responsible for the high durability of wood and may contribute to the organoleptic quality of wines and spirits (color, astringency, bitterness). Despite their importance, their presence and forms in distilled spirits are not well known. The aim of this work was therefore to develop and validate a method to identify and quantify oak wood ellagitannins in Cognac using high liquid chromatography-triple quadrupole (LC-QQQ) analysis. The method was validated using vescalagin as the standard and by studying sensitivity, linearity in working range, intraday repeatability, and intraday precision in order to quantify individual ellagitannins in this complex matrix.

1. Introduction

The history of wooden barrels goes back thousands of years. They have not only been used to transport all manner of goods around the world, but they also remain integral to the production of wine and spirits, due to the character they impart. The first references to the use of barrels are by Pliny the Elder, who attributed their origin to the Celts who used them to store and transport beer and other goods (Work, 2014). The Romans originally stored and transported wine in amphorae, but after they arrived in Gaul, they quickly learned to build barrels. The greater capacity and resistance of the casks meant that they gradually replaced amphorae throughout the Mediterranean (Lachivier, 1988). They also provide good thermal insulation, remarkable impermeability and contribute to the organoleptic quality of wines and spirits (Vivas, 2002). The chemical composition of oak wood is influenced principally by the species and geographical origin of the wood (Frangipane, Santis, & Ceccarelli, 2007; Masson, Moutounet, & Puech, 1995), as well as by the treatment of the wood in the cooperage, such as the process to obtain staves, seasoning of the staves (natural or artificial, length and location) and toasting of the barrel (method, temperature, length) (Doussot, De Jéso, Quideau, & Pardon, 2002). During aging in oak barrels, the composition of wines and spirits changes because of the release of wood compounds (i.e. polyphenolic compounds, polysaccharides, triterpenes, lignans, volatile compounds), affecting

their organoleptic properties such as aroma, color or even sensation and taste, such as astringency and bitterness (del Álamo et al., 2008; Chira and Teissedre, 2013; Li and Duan, 2019; Awad et al., 2017; Schwarz et al., 2014; Wiśniewska et al., 2015). Among these compounds, ellagitannins (hydrolysable tannins) represent 10% of the dry weight in oak heartwood. They are responsible for the high durability of wood (Scalbert, Monties, Dupouey, & Becker, 1986), possess antioxidant activity (Alañón, Castro-Vázquez, Díaz-Maroto, Gordon, & Pérez-Coello, 2011), and have an impact on bitterness and astringency sensations (Chira & Teissedre, 2015; Glabasnja & Hofmann, 2006). Also, due to their structures with several hydroxyl functions, ellagitannins are involved in various reactions, including hydrolysis and oxidation (García-Estévez et al., 2017; Michael Jourdes, 2003; Puech et al., 1999).

Eight ellagitannins have been identified in oak wood, so far (Michaël Jourdes, Michel, Saucier, Quideau, & Teissedre, 2011). The monomers castalagin and vescalagin are the most abundant, but lyxose/xylose derivatives (grandinin and roburin E) and dimeric forms (roburins A to D) are also present (Fig. 1). These compounds have been widely studied in red wine (García-Estévez, Escribano-Bailón, Rivas-Gonzalo, & Alcalde-Eon, 2012; María Reyes González-Centeno, Chira, & Teissedre, 2017; Michel, 2012), but not in spirits and especially in Cognac "eaux-de-vie", however. Only the determination of ellagitannin monomers by HPLC has been performed in brandy (Canas, Casanova, & Pedro Belchior, 2008), and the formation of whiskey polyphenols by

* Corresponding author.

E-mail address: kleopatra.chira@u-bordeaux.fr (K. Chira).

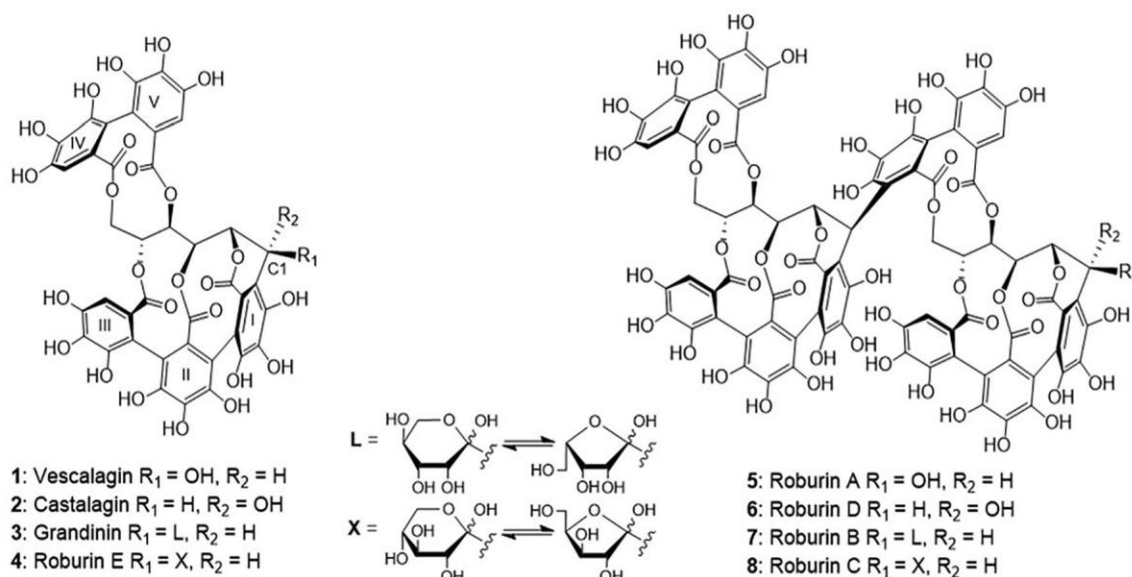


Fig. 1. Chemical structures of molecular ellagitannins 1–8. L and X correspond to Lyxose and Xylose respectively.

oxidation of castalagin has been studied in whiskey (Fujieda, Tanaka, Suwa, Koshimizu, & Kouno, 2008). Cognac is a prestigious French spirit produced exclusively in Charente and Charente-Maritime. Like other spirits, cognac is a complex matrix due to the different stages of its manufacture (alcoholic fermentation, double distillation, maturation in oak barrels and bottling) characterized by a high degree of alcohol with ethanol concentrations usually ranging from 40% v/v (commercial cognac) to 65% v/v (“eau-de-vie” as it comes out of the still). Cognac possesses a lot of volatile compounds, more than 500 of which have already been detected (Ferrari et al., 2004; Jeleń, Majcher, & Szwengiel, 2019; Ledauphin, Le Milbeau, Barillier, & Hennequin, 2010), and nonvolatile compounds acquired after distillation, such as ellagitannins, which are released by oak wood during aging. Due to their high reactivity and similarities in structure (Fig. 1), the detection and quantification of the ellagitannins in spirits is difficult. They present coelutions in HPLC-DAD, thereby limiting their quantification. For this reason, identification and quantification of the main oak wood ellagitannins by HPLC-DAD-MS is more suitable. In addition, ellagitannins from oak wood are not commercially available in view of the difficulty of synthesizing them. As the purification of these molecules is long and complicated for lyxose/xylose derivatives (grandinin and roburin E) and dimeric forms (roburins A to D), the development of a method to quantify the eight ellagitannins seems to be more judicious and necessary.

The objective of this study was therefore to develop and validate a new method to identify and quantify the ellagitannins in oak wood and Cognac “eau-de-vie” by a mass spectrometry method. For the method development, vescalagin was used, given that it is one of the most abundant ellagitannins in oak wood and has previously been purified in the laboratory. After development of the Liquid Chromatography-Diode Array Detector coupled with a Triple quadrupole (LC-DAD-QQQ) method, the eight ellagitannins were quantified in various samples of oak wood and Cognac “eau-de-vie” and all the concentrations were expressed in vescalagin equivalents, in order to validate the current method.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

For sample preparation, analytical reagent grade acetone was purchased from VWR International (Pessac, France). Ultrapure water (Milli-Q purification system, Millipore, France) was used. Vescalagin

was extracted from untoasted oak chips (*Quercus robur/Quercus petraea*) and further isolated using preparative analysis (2.3.3). The methanol, water and formic acid used for chromatographic separation were LC-MS grade and purchased from Agilent Chemical (France).

2.2. Origin of oak wood

Oak material was collected from two French forests: Châteauroux (Indre) and Dordogne. The stave samples came from two oak species *Quercus robur* and *Quercus petraea* and they were stored for natural seasoning during 36 months in the Courvoisier seasoning park (Jarnac, France).

2.3. Sample preparation

2.3.1. Preparation of oak wood extracts for LC-QQQ analysis

Nine staves from different positions on a wooden pallet were reduced to a fine sawdust. 4 g of each oak sawdust was submitted to 6 solid/liquid extractions by acetone/water (70/30) during 17 min using a 350 ASE Dionex Corporation Extractor solvent extraction system (ThermoFisher, Les Ulis, France) with the following parameters: static time set at 8 min, temperature at 60 °C and pressure at 150 bar (Michel, 2012). Indeed, previous experiments showed that 96% of total ellagitannins were extracted with 6 consecutive extractions (Michel, 2012). All the extracts were combined and evaporated under reduced pressure, and the obtained residue was dissolved in 10 mL of water, then cooled and stored at -20 °C in order to be freeze-dried for 2 days. Prior to analysis, 5 mg of the wood dry extract was dissolved in 1 mL of Milli-Q water and filtered through a 0.45 µm PTFE syringe filter. The results were expressed as milligrams per gram (of oak wood) on the basis of the dilution factor.

2.3.2. “Eaux-de-vie” of Cognac and sample preparation for LC-QQQ analysis

A series of 20 samples of young Cognac “eau-de-vie” aged for 6 months in barrels was used in this study. For the first time, the eight principal ellagitannins of oak wood were quantified in Cognac “eau-de-vie” using the method validated previously in the laboratory.

Cognac “eau-de-vie” are rich in alcohol content and in order to quantify the ellagitannins, it was therefore necessary to evaporate them under reduced pressure to ensure good chromatographic separation and allow all concentrations to be included in the working range. 100 mL of Cognac “eau-de-vie” was evaporated under reduced pressure, and the

obtained residue was redissolved in 500 μL of water and filtered through 0.45 μm micron filters. The samples were injected into LC-QQQ using the chromatographic and spectrometric parameters described below. All concentrations were expressed in mg/L of vescalagin equivalents.

2.3.3. Preparative HPLC

Vescalagin was isolated using semi-preparative HPLC analysis. Chromatographic separation was carried out on a Prontosil C18 column (250 \times 8 mm, 5 μm , Metrohm France). UV detection was carried out at 280 nm. The mobile phases were (A) water and (B) methanol, each containing 0.025% TFA. The flow rate was 2.5 mL/min, and eluent B varied as follows: 1 to 3% from 1 to 25 min; 3 to 100% from 26 to 36 min, 100% from 37 to 42 min, 100 to 0% from 43 to 45 min and 0% from 46 to 48 min. The injection volume was 200 μL . The data obtained were analyzed by LC Open Lab.

2.4. HPLC-DAD analysis

The HPLC-DAD system was an Agilent 1200 Infinity series (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) equipped with a diode-array (DAD). For ellagitannin quantification, a Kinetex column (150 \times 3 mm, 2.6 μm particle size, Phenomenex, Le Pecq Cedex, France) was used with acidified water at 0.1% formic acid (Eluent A) and acidified methanol at 0.1% formic acid (Eluent B) as mobile phases. The flow rate was set at 400 $\mu\text{L}/\text{min}$, and the injection volume was 10 μL . The gradient of solvent B was as follows: 1% from 0 to 3 min; 1 to 3% from 4 to 5 min, 3 to 3.5% from 6 to 7 min, 3.5 to 4% from 7 to 8 min, 4 to 4.5% from 8 to 9 min, 4.5 to 5% from 9 to 10 min, 5 to 10% from 11 to 15 min, 10 to 15% from 16 to 18 min, 15 to 20% from 19 to 23 min, 20 to 99% from 24 to 35 min and 99% from 36 to 40 min, and then the HPLC column was equilibrated for 4 min using the initial conditions before the next injection. The DAD signals were carried out at 280 nm and 250 nm wavelengths.

2.5. QQQ analysis

A 6460 Triple Quadrupole mass spectrometer equipped with a heated electrospray ionization probe (both from Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) connected to the HPLC system via the DAD cell outlet was used. The mass analyzer was calibrated each week using an ESI-L Low Concentration Tuning Mix (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany).

To perform targeted screening, the ionization and spectrometric parameters were optimized in negative mode: gas temperature and flow were 350 $^{\circ}\text{C}$ and 5 L/min, respectively; sheath gas temperature and flow were 250 $^{\circ}\text{C}$ and 10 L/min, respectively; capillary voltage was 4500 V.

For the quantification of ellagitannins in the spirits and oak wood, mass acquisitions were performed and optimized in negative ionization mode, and the cell accelerator voltage was 8 V. All data were processed using MassHunter Qualitative Analysis software (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany).

2.6. Model calibration development

Vescalagin solution (1 g/L) was prepared in methanol. A range of calibration was prepared by successive dilutions of this solution in acidified water with 0.1% formic acid in order to supply calibration samples (200–0.1 mg/L). Detection of vescalagin was based on the theoretical exact mass of the most intense ion, the fragment ion at m/z 933.1, and its retention time at 10.3 min.

2.7. Method validation

The LC-QQQ method that was developed was validated using MS detection in negative ionization mode. Previous injections in positive

and negative mode have shown that negative mode is the best way to identify and quantify the peak signals of ellagitannins, since this mode allows the best response coefficient. The quantification method was validated by studying the determination of sensitivity, linearity in working range, intraday repeatability, and intraday precision (De Paepe et al., 2013; Winstel & Marchal, 2018) in order to quantify the individual ellagitannins in oak wood and spirits.

2.7.1. Linearity

A calibration curve for vescalagin was obtained by plotting the peak area for each concentration level versus the nominal concentration of each calibration standard. The best curve fit was obtained with a linear curve with a good correlation coefficient (R^2 of 0.9994) for a range from 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ to 200 mg/L.

2.7.2. Sensitivity

The limit of detection (LOD) is calculated by the concentration for a signal to noise ratio equal to 3 and the quantification limit (LOQ) is the concentration for a signal to noise ratio equal to 10. LOD and LOQ were calculated using the MassHunter Qualitative Analysis software. Replicate injections of the lowest level of the calibration curve (from 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ to 1 mg/L) allowed precision to be determined accurately (RSD %). The accuracy of the analytical method was evaluated by calculating the recoveries adding vescalagin at three intermediate concentrations in three Cognac "eaux-de-vie". LOD and LOQ were defined as the lowest concentrations with a lower precision (< 10%) and a higher accuracy (> 90%).

2.7.3. Repeatability and reproducibility

To evaluate intraday precision, five replicates of two intermediate calibration solutions (2 and 20 mg/L) were injected on the same day and the relative standard deviation (RSD%) was calculated. In the same manner, interday precision consisted in injecting the previous two samples over 5 successive days.

2.8. Statistical data analysis

Statistical data analysis was performed using the analysis of variance (ANOVA) of RStudio Team software (Boston, 2015). Tukey's HSD was used as a comparison test when samples were significantly different after ANOVA, with a significance level of $\alpha = 0.05$, for chemical analysis. The Kruskal-Wallis test and Wilcoxon-Mann-Whitney test were used to analyze non-parametric values.

3. Results and discussion

3.1. Development of a mass spectrometry method to quantify ellagitannins in oak wood and "eaux-de-vie"

3.1.1. Mass parameter optimization

The LC-QQQ combination appeared to be a powerful technique for phenolic compound quantitation. A simple UV chromatography with a DAD at 280 nm does not allow good separation for the 8 ellagitannins, because 4 of them are co-eluted at the beginning of the chromatogram, and LC-QQQ is therefore a perfect choice for the quantification of these molecules. Indeed, the QQQ allows the SIM quantification of each molecular ion in a precise way with low detection limits. zDifferent HPLC columns (Eclipse 150 mm, hypersilgold column 50 \times 1.1 mm \times 1.9 μm , zorbax eclipse plus C18 2.1 \times 50 mm \times 1.8 μm) were tested and finally the best chromatographic separation was achieved with a Kinetex column (150 \times 3 mm, 2.6 μm particle size, Phenomenex, Torrance, CA). Mass parameters were tuned to obtain the highest signal for the main eight oak wood ellagitannins. The quantification of these compounds was performed in SIM (Singular Ion Monitoring) mode due to its high selectivity and sensitivity, after a preliminary study in full scan injection to ensure the

presence of the ellagitannins and to note their retention times. In the SIM method, the exact mass of the 8 individual ellagitannins in negative mode was submitted: (–)-vescalagin and (–)-castalagin are monomers and isomers as well with an identical m/z ratio of 933.1 ($C_{41}H_{25}O_{26}^-$), (–)-grandinin and (–)-roburin E, as glycosylated monomers, also have similar structures with an identical m/z ratio of 1065.1 ($C_{46}H_{33}O_{30}^-$), likewise, roburin A and D are two dimers that have an identical m/z ratio of 1849.1 ($C_{82}H_{49}O_{51}^-$) but as they are bicharged molecules, they are more easily observable in mass spectrometry at a m/z ratio of 924.2. Finally, roburin B and C are two glycosylated dimers with an identical m/z ratio of 1981.2 ($C_{87}H_{57}O_{55}^-$), but like roburin A and D, they are bicharged molecules so they are more observable at a m/z ratio of 990.2. Based on previous laboratory studies with red wine ellagitannins (Michael Jourdes, 2003; Michel, 2012) and on the specific ellagitannin fragmentation, we were able to determine their appearance order on the chromatogram. The concentrations of vescalagin, castalagin, grandinin, and roburin A to roburin E were expressed as equivalents of vescalagin.

3.1.2. Method validation

The quantification of ellagitannins was carried out by preparing calibration solutions of pure vescalagin in acidified water with 0.1% formic acid. The calibration model could therefore be in acidified water, which also corresponds to the solvent used at LC-QQQ.

3.1.2.1. Working range. The calibration curve of vescalagin was built in a large range of concentrations (from 100 $\mu\text{g/L}$ to 200 mg/L) to establish a wide range adapted to the concentrations found in Cognac “eaux-de-vie” and in oak wood.

3.1.2.2. Calibration curve adjustment. Data were fitted to different calibration models and the best results were obtained for a linear model with a good correlation coefficient ($r^2 > 0.999$). Accuracy was established by obtaining the recovery rates for each concentration level of the calibration curve. The recovery value was always higher than 84%, thus demonstrating the accuracy of the method.

3.1.2.3. Sensitivity. The lowest levels of the calibration curve (from 0.1 to 1 mg/L) were injected into five replicates. Precision was measured by the relative standard deviation RSD (%) obtained for each concentration. Limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated for the lowest concentration for which the RSD was less than 10%. They were calculated at 41.4 $\mu\text{g/L}$ and 138 $\mu\text{g/L}$ respectively (Table 1).

3.1.2.4. Intra- and interday precision, and trueness. To determine intraday precision, five replicates of two intermediate concentrations (2 mg/L and 20 mg/L) of the calibration curve were injected successively. Intraday repeatability (RSD) was < 2% to 2 mg/L

Table 1

Validation parameters for LC-QQQ quantification of molecular ellagitannins in Cognac “eaux-de-vie” and oak wood.

Parameters	Matrix			
Sensitivity	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)		
	41.4	138		
Linearity and Accuracy	Working Range	R ²		
	100 $\mu\text{g/L}$ – 200 mg/L	0.9994		
Repeatability and Trueness	Intraday Repeatability	20 mg/L		
	2 mg/L	5.17%		
Recovery	6.1%	5.17%		
	Samples	5 mg/L	10 mg/L	50 mg/L
	EDV-1	85%	85%	85%
	EDV-2	85%	86%	86%
	EDV-3	86%	87%	86%

and < 1% to 20 mg/L , ensuring a good repeatability of the method (Table 1).

Interday precision was determined by injecting these same two concentrations in five replicates over five successive days. For both concentrations, the interday repeatability was < 10%, ensuring good reproducibility of the method.

Trueness of the method was evaluated by calculating the recovery ratio of three samples of cognac “eau-de-vie” spiked with three different concentrations of the stock solutions (5 mg/L , 10 mg/L and 50 mg/L). Recovery ratios were > 85% for the compounds with the addition of 5 mg/L , 10 mg/L and 50 mg/L . These results then demonstrated the trueness of the method applied to “eaux-de-vie” (Table 1) (Research, 2020).

3.2. Ellagitannin determination in oak wood samples

To prove the feasibility of the analysis method that had been developed, nine samples of oak wood were analyzed with this method, in duplicate. To assay ellagitannins in oak wood, nine staves coming from different positions on a wooden pallet were studied.

The main eight oak wood ellagitannins were observed in all samples, and all the concentrations were measured using the vescalagin calibration curve. Fig. 2a shows the eight ellagitannins according to their form and retention time found in the oak wood extracts that were analyzed. Total individual ellagitannin concentrations ranged from 10.4 mg/g to 18.8 mg/g of vescalagin equivalents.

Statistical analysis showed that ellagitannin content depended on the wood position on the pallet. The Pairwise-Wilcoxon test revealed that there were no significant differences according to pallet height or between the top and the middle of the pallet. On the contrary, there were significant differences between the bottom, middle and top of the pallet for the total ellagitannin content (Fig. 3). At the bottom of the pallet, the average concentrations were 16.7 mg/g of wood in vescalagin equivalents, and therefore higher than the concentrations found in the middle (14 mg/g of wood in vescalagin equivalents) and at the top of the pallet (11.3 mg/g of wood in vescalagin equivalents). In addition, most of the individual ellagitannins showed significant differences in concentrations between the staves from the bottom of the pallet and those from the top ($p < 0.05$). This preliminary study helped to optimize wood piece sampling to achieve good representativeness of ellagitannin concentrations in oak wood.

The distribution of ellagitannins in the staves of a pallet can be explained by the fact that during the first 6 months, the wood dries quickly. It is also during this period that leaching by rain or by artificial means is the most important. Indeed, several water-soluble compounds such as ellagitannins can be entrained. After 6 months, the wood which then contains a humidity of less than 35% is less prone to leaching. The fibers are tightened and allow very little runoff water to pass. It is from this time that the deeper, slower drying will really begin, up to about 12–18 months (Michel, 2012; Vivas, 2002). As the staves at the top of the pallet are the most prone to leaching, it is normal that they contain less ellagitannins.

3.3. Ellagitannin determination in “eaux-de-vie” samples

The method developed in this study was also applied to quantify ellagitannins in Cognac. Twenty samples of young Cognac “eaux-de-vie” aged in contact with barrels were analyzed, taking into consideration four replicates for each “eau-de-vie”. Ellagitannins were detected in all samples. Individual quantification of ellagitannins was carried out using selected ion monitoring mode (SIM), as this is accurate and precise, and allows the quantification of small amounts of ellagitannins.

The results showed that young “eaux-de-vie” contained all eight ellagitannins (Table 2). However, each individual ellagitannin had its own extraction pattern. Castalagin made up around 40% to 70% of the

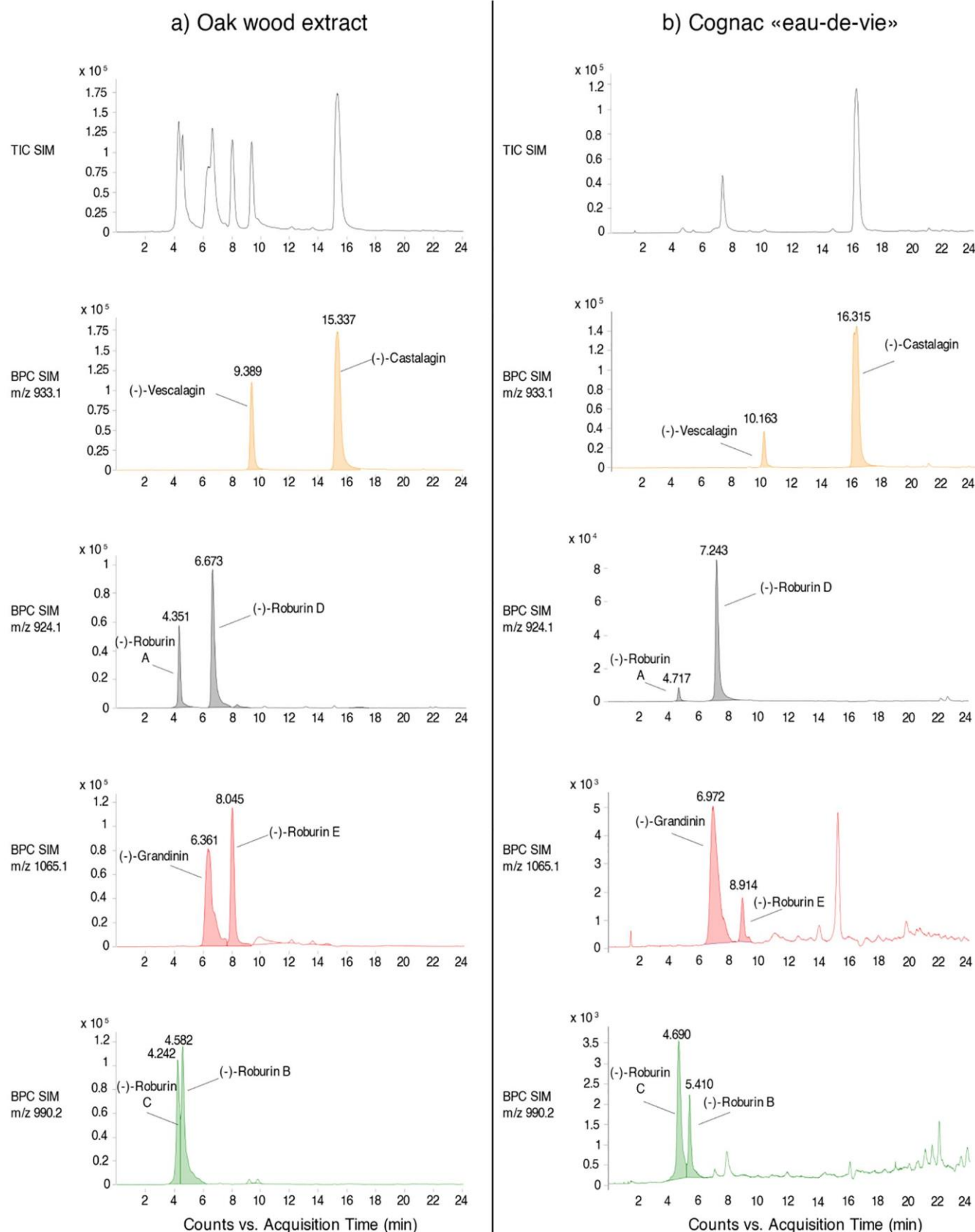


Fig. 2. Negative LC-QQQ of an a) oak wood extract and b) a Cognac «eau-de-vie» corresponding to $[M - H]^-$ ions of molecular ellagitannins.

total ellagitannins extracted. This monomer is the majority ellagitannin in oak wood and is more stable than its isomer, vescalagin, due to the position of the hydroxyl on the carbon 1. The roburin D dimer and grandinin glycosylated monomer are the most extractable ellagitannins after castalagin. In general, the total ellagitannin concentration ranged

from 1.9 mg/L to 9.3 mg/L in vescalagin equivalents. As individual ellagitannin concentrations in cognac have never been analyzed before this study, the values observed here are the first to be reported for Cognac spirits. In brandies, the sum of vescalagin and castalagin has been reported to be between 9 and 12 mg/L of ellagitannins in gallic

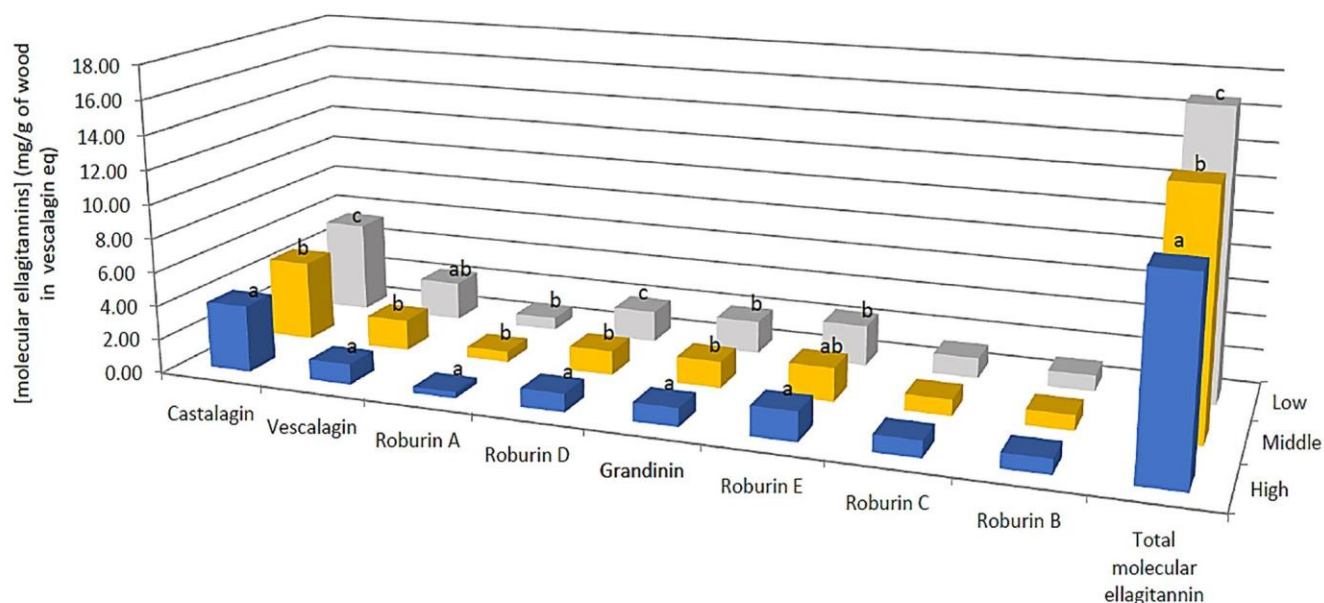


Fig. 3. Content of the main eight molecular ellagitannins of wood taken from staves at three different levels (low, middle, high) in the pallet; a-c show the significant differences among the different positions ($p < 0.05$).

acid equivalents (Canas et al., 2008). In a red French Cabernet Sauvignon wine, the sum of individual ellagitannin concentrations ranged from 0.6 to 15.5 mg/L in castalagin equivalents for six and twelve months of aging in oak barrels respectively. Italian and American Cabernet Sauvignon wines presented a sum ranging from 0.5 to 5.76 mg/L and from 0.6 to 12.4 mg/L in castalagin equivalents after between six and twelve months of aging respectively. As in red wine, castalagin is the most abundant component in “eau-de-vie” and represents 68–79% of the total ellagitannin fraction (M.R. González-Centeno, Chira, & Teissedre, 2016).

4. Conclusion

To sum up, a spectrometry method for the quantification of individual oak ellagitannins in distilled spirits and oak wood was developed and validated for the first time in this study. More precisely, the present method allows accurate and precise quantification of oak

ellagitannins in Cognac “eaux-de-vie” after a simple dry evaporation under pressure, and in oak wood after steps of extraction with low detection and quantification limits. The method that was developed was validated in terms of LOD, LOQ, sensitivity, linearity in working range, intraday repeatability, and intraday precision. The best results in the validation process were achieved with SIM analysis, which showed the highest precision and the lowest detection and quantification limits. This validated method was applied successfully to the detection and quantification of the main eight oak ellagitannins in different samples of oak wood and “eaux-de-vie”.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Table 2
Molecular ellagitannin concentrations quantified in different Cognac “eaux-de-vie” (EDV).

EDV	[Vescalagin] (mg/L vescalagin eq)	[Castalagin] (mg/L vescalagin eq)	[Roburin A] (mg/L vescalagin eq)	[Roburin D] (mg/L vescalagin eq)	[Grandinin] (mg/L vescalagin eq)	[Roburin E] (mg/L vescalagin eq)	[Roburin C] (mg/L vescalagin eq)	[Roburin B] (mg/L vescalagin eq)	Total molecular ellagitannin content (mg/L vescalagin eq)
EDV-1	0.53 ± 0.20	4.54 ± 0.18	0.06 ± 0.03	1.39 ± 0.23	1.50 ± 0.35	0.58 ± 0.25	0.56 ± 0.19	0.14 ± 0.04	9.29 ± 1.37
EDV-2	0.35 ± 0.12	3.41 ± 0.39	0.04 ± 0.02	1.07 ± 0.24	1.10 ± 0.20	0.41 ± 0.15	0.45 ± 0.15	0.10 ± 0.03	6.9 ± 1.11
EDV-3	0.48 ± 0.16	3.78 ± 0.24	0.07 ± 0.02	1.47 ± 0.25	1.22 ± 0.11	0.57 ± 0.14	0.52 ± 0.10	0.12 ± 0.03	8.23 ± 0.95
EDV-4	0.52 ± 0.17	3.62 ± 0.40	0.07 ± 0.02	1.48 ± 0.15	1.22 ± 0.34	0.61 ± 0.17	0.52 ± 0.11	0.14 ± 0.03	8.18 ± 1.30
EDV-5	0.55 ± 0.11	3.77 ± 0.18	0.07 ± 0.02	1.27 ± 0.18	1.42 ± 0.17	0.53 ± 0.09	0.61 ± 0.11	0.17 ± 0.04	8.39 ± 0.61
EDV-6	0.64 ± 0.24	4.90 ± 0.57	0.04 ± 0.01	0.61 ± 0.53	1.23 ± 0.32	0.39 ± 0.14	0.36 ± 0.10	0.10 ± 0.02	8.28 ± 0.53
EDV-7	0.29 ± 0.06	2.81 ± 0.36	0.04 ± 0.01	0.84 ± 0.16	0.81 ± 0.22	0.32 ± 0.09	0.27 ± 0.06	0.05 ± 0.03	5.43 ± 0.70
EDV-8	0.33 ± 0.11	2.88 ± 0.09	0.04 ± 0.01	0.77 ± 0.09	0.96 ± 0.12	0.40 ± 0.17	0.28 ± 0.03	0.06 ± 0.01	5.71 ± 0.30
EDV-9	0.08 ± 0.09	2.13 ± 0.58	0.01 ± 0.01	0.37 ± 0.21	0.30 ± 0.21	0.06 ± 0.09	0.12 ± 0.06	0.04 ± 0.02	3.10 ± 1.18
EDV-10	0.07 ± 0.15	1.34 ± 0.86	0.01 ± 0.02	0.35 ± 0.39	0.31 ± 0.26	0.07 ± 0.13	0.09 ± 0.15	0.04 ± 0.05	2.28 ± 1.43
EDV-11	0.06 ± 0.13	2.02 ± 0.63	0.01 ± 0.01	0.28 ± 0.22	0.26 ± 0.33	0.05 ± 0.17	0.08 ± 0.09	0.03 ± 0.01	2.77 ± 1.53
EDV-12	0.09 ± 0.04	1.98 ± 0.46	0.01 ± 0.00	0.35 ± 0.20	0.23 ± 0.09	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.05	0.02 ± 0.02	2.81 ± 0.87
EDV-13	0.16 ± 0.07	3.07 ± 0.38	0.02 ± 0.01	0.80 ± 0.25	0.46 ± 0.15	0.09 ± 0.04	0.19 ± 0.08	0.07 ± 0.03	4.86 ± 0.87
EDV-14	0.12 ± 0.10	2.71 ± 0.54	0.01 ± 0.01	0.65 ± 0.41	0.37 ± 0.22	0.06 ± 0.06	0.15 ± 0.12	0.06 ± 0.04	4.14 ± 0.98
EDV-15	0.17 ± 0.07	2.79 ± 0.21	0.02 ± 0.01	0.73 ± 0.20	0.32 ± 0.13	0.09 ± 0.05	0.13 ± 0.06	0.05 ± 0.02	4.29 ± 1.47
EDV-16	0.07 ± 0.03	2.09 ± 0.38	0.01 ± 0.00	0.42 ± 0.21	0.17 ± 0.05	0.03 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.03 ± 0.01	2.89 ± 0.67
EDV-17	0.18 ± 0.08	2.49 ± 0.23	0.03 ± 0.02	0.84 ± 0.24	0.24 ± 0.08	0.08 ± 0.04	0.11 ± 0.05	0.04 ± 0.02	4.00 ± 0.69
EDV-18	0.14 ± 0.13	2.43 ± 0.46	0.02 ± 0.02	0.71 ± 0.32	0.21 ± 0.07	0.05 ± 0.03	0.08 ± 0.04	0.03 ± 0.01	3.66 ± 1.01
EDV-19	0.12 ± 0.06	1.73 ± 0.34	0.01 ± 0.01	0.42 ± 0.15	0.12 ± 0.03	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.00	2.49 ± 0.61
EDV-20	0.06 ± 0.05	1.38 ± 0.21	0.01 ± 0.01	0.26 ± 0.11	0.11 ± 0.04	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.00	1.88 ± 0.41

Acknowledgements

The authors gratefully thank Courvoisier SAS for providing all the samples of Cognac “eaux-de-vie” and oak wood, and for their financial support which enabled this work. The authors also thank the Hancock Hutton translation house for their proofreading.

References

- Alañón, M. E., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., Gordon, M. H., & Pérez-Coello, M. S. (2011). A study of the antioxidant capacity of oak wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition. *Food Chemistry*, *128*(4), 997–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.005> (Original work published).
- Awad, P., Athès, V., Decloux, M. E., Ferrarì, G., Snakkers, G., Raguenaud, P., & Giampaoli, P. (2017). Evolution of Volatile Compounds during the Distillation of Cognac Spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(35), 7736–7748. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02406> (Original work published).
- Canas, S., Casanova, V., & Pedro Belchior, A. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of Portuguese wine aged brandies. *Journal of Food Composition and Analysis*, *21*(8), 626–633. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.001> (Original work published).
- Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2013). Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage. *Food Chemistry*, *140*(1), 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.049> (Original work published).
- Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2015). Chemical and sensory evaluation of wine matured in oak barrel: Effect of oak species involved and toasting process. *European Food Research and Technology*, *240*(3), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2352-3> (Original work published).
- De Paep, D., Servaes, K., Noten, B., Diels, L., De Loose, M., Van Droogenbroeck, B., & Voorspoels, S. (2013). An improved mass spectrometric method for identification and quantification of phenolic compounds in apple fruits. *Food Chemistry*, *136*(2), 368–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.062> (Original work published).
- del Álamo, M., Nevares, I., Gallego, L., Martín, C., & Merino, S. (2008). Aging markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Analytica Chimica Acta*, *621*(1), 86–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.014> (Original work published).
- Doussot, F., De Jéso, B., Quideau, S., & Pardon, P. (2002). 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*, *50*(21), 5955–5961. <https://doi.org/10.1021/jf020494e> (Original work published).
- Ferrari, G., Lablanquie, O., Cantagrel, R., Ledauphin, J., Payot, T., Fournier, N., & Guichard, E. (2004). Determination of Key Odorant Compounds in Freshly Distilled Cognac Using GC-O, GC-MS, and Sensory Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(18), 5670–5676. <https://doi.org/10.1021/jf049512d> (Original work published).
- Frangipane, M. T., Santis, D. D., & Ceccarelli, A. (2007). Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chemistry*, *103*(1), 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.070> (Original work published).
- Fujieda, M., Tanaka, T., Suwa, Y., Koshimizu, S., & Kouno, I. (2008). Isolation and structure of whiskey polyphenols produced by oxidation of oak wood ellagitannins. *Journal of agricultural and food chemistry*, *56*, 7305–7310. <https://doi.org/10.1021/jf8012713> (Original work published).
- García-Estévez, I., Alcalde-Eon, C., Martínez-Gil, A. M., Rivas-Gonzalo, J. C., Escribano-Bailón, M. T., Nevares, I., & del Álamo-Sanza, M. (2017). An Approach to the Study of the Interactions between Ellagitannins and Oxygen during Oak Wood Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(31), 6369–6378. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02080> (Original work published).
- García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C., & Alcalde-Eon, C. (2012). Validation of a Mass Spectrometry Method To Quantify Oak Ellagitannins in Wine Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(6), 1373–1379. <https://doi.org/10.1021/jf203836a> (Original work published).
- Glabasnia, A., & Hofmann, T. (2006). 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*, *54*(9), 3380–3390. <https://doi.org/10.1021/jf052617b> (Original work published).
- González-Centeno, M. R., Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2017). Comparison between malolactic fermentation container and barrel toasting effects on phenolic, volatile, and sensory profiles of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(16), 3320–3329. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05497> (Original work published).
- González-Centeno, M. R., Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2016). Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods. *Food Chemistry*, *210*, 500–511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139> (Original work published).
- Jeleń, H. H., Majcher, M., & Szwengiel, A. (2019). Key odorants in peated malt whisky and its differentiation from other whisky types using profiling of flavor and volatile compounds. *LWT*, *107*, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.070> (Original work published).
- Jourdes, Michael. (2003). Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins C-glycosidiques et flavano-ellagitannins (Bordeaux). Bordeaux, Bordeaux. Consulté à l'adresse <http://www.sudoc.fr/077138856> (Original work published).
- Jourdes, M., Michel, J., Saucier, C., Quideau, S., & Teissedre, P.-L. (2011). 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*, *401*(5), 1531. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4949-8> (Original work published).
- Lachivier, M. (1988). *Vins, vignes et vigneron. Histoire du vignoble français (Fayard)*. Paris: Fayard (Original work published).
- Ledauphin, J., Le Milbeau, C., Barillier, D., & Hennequin, D. (2010). Differences in the volatile compositions of French labeled brandies (armagnac, calvados, cognac, and mirabelle) using GC-MS and PLS-DA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(13), 7782–7793. <https://doi.org/10.1021/jf9045667> (Original work published).
- Li, S.-Y., & Duan, C.-Q. (2019). Astringency, bitterness and color changes in dry red wines before and during oak barrel aging: An updated phenolic perspective review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(12), 1840–1867. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431762> (Original work published).
- Masson, G., Moutounet, M., & Puech, J. L. (1995). Ellagitannin Content of Oak Wood as a Function of Species and of Sampling Position in the Tree. *American Journal of Enology and Viticulture*, *46*(2), 262–268 (Original work published).
- Michel, J. (2012). Classification et influences des polyphénols du bois de chêne sur la qualité sensorielle des vins (Application du procédé OakScan®) (Thèse de doctorat). Université de Bordeaux II, 1970-2013, France. (Original work published).
- Puech, J. L., Mertz, C., Michon, V., Le Guernevé, C., Doco, T., & Hervé Du Penhoat, C. (1999). Evolution of castalagin and vescalagin in ethanol solutions. Identification of new derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(5), 2060–2066. (Original work published).
- Research, C. for D. E. and. (2020, janvier 28). Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry. Consulté 3 février 2020, à l'adresse U.S. Food and Drug Administration website: <http://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry> (Original work published).
- Scalbert, A., Monties, B., Dupouey, J. L., & Becker, M. (1986). Polyphénols extractibles du bois de chêne: Variabilité interspécifique, interindividuelle et effet de la duraminisation. *Bulletin de Liaison du groupe polyphenol*, *13*, 617–619 (Original work published).
- Schwarz, M., Rodríguez, M. C., Sánchez, M., Guillén, D. A., & Barroso, C. G. (2014). Development of an accelerated aging method for Brandy. *LWT – Food Science and Technology*, *59*(1), 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.060> (Original work published).
- Vivas, N. (2002). *Manuel de tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*. Bordeaux: Férét (Original work published).
- Winstel, D., & Marchal, A. (2018). Lignans in Spirits : Chemical Diversity, Quantification, and Sensory Impact of (±)-Lyoniresinol. *Molecules*, *24*(1), 117. <https://doi.org/10.3390/molecules24010117> (Original work published).
- Wiśniewska, P., Dymerski, T., Wardencki, W., & Namieśnik, J. (2015). Chemical composition analysis and authentication of whiskey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(11), 2159–2166. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6960> (Original work published).
- Work, H. H. (2014). *Wood, Whiskey and Wine : A History of Barrels*. Reaktion Books. (Original work published).

3. CONCLUSION

Ce premier chapitre a permis la mise au point d'une méthode de dosage des ellagitanins C-glucosiques à la fois dans le bois de chêne et dans les eaux-de-vie de Cognac afin de permettre la quantification de ces composés de façon précise et rapide, grâce à l'utilisation d'une HPLC-QQQ. La spectrométrie de masse et particulièrement le Triple-quadrupôle est un outil permettant la quantification en masse des composés, notamment grâce à un ciblage des molécules à étudier. Cet outil permet de ne pas tenir compte de possibles co-élutions souvent retrouvées en UV. La méthode a été mise au point et validée afin de pouvoir par la suite étudier cette famille de composés dans le bois de chêne et dans les eaux-de-vie de Cognac. C'est la première fois qu'une méthode permettant l'identification et la quantification individuelle des huit ellagitanins C-glucosidiques dans les eaux-de-vie de Cognac a été mise au point.

Une fois ce travail réalisé, l'étude des ellagitanins C-glucosidiques dans le bois de chêne et dans les eaux-de-vie a été rendu possible. Le prochain chapitre s'intéressera donc à l'évolution de ces composés dans le bois de chêne lors de l'étape de séchage des merrains, et dans les eaux-de-vie de Cognac afin d'étudier l'impact de la chauffe de la barrique sur les teneurs de ces composés.

CHAPITRE 2 : IMPACT DE LA FABRICATION DES BARRIQUES ET DES
TECHNIQUES D'ELEVAGE DES EAUX-DE-VIE SUR LES TENEURS EN
ELLAGITANINS

1. INTRODUCTION

Les barriques qui serviront au vieillissement des vins et spiritueux sont caractérisées par le type de bois utilisé, l'espèce, l'âge, ou encore le grain, mais sont également fortement dépendantes des processus de tonnellerie qui influencent les caractéristiques des barriques.

Le séchage du bois en tonnellerie compte parmi les étapes importantes dans le processus de fabrication de la barrique. Le bois subit un processus lent d'affinage et de vieillissement lors duquel plusieurs modifications chimiques conduisent à la diminution des teneurs en polyphénols comme les ellagitanins. Ces derniers sont impactés par le lessivage des bois qui ont lieu tout au long du processus de séchage des merrains.

La chauffe aromatique ou bousinage est une autre étape clé du processus de fabrication des barriques car elle module la qualité des vins et spiritueux à travers un apport de couleur et par l'obtention de caractères organoleptiques spécifiques. Cette chauffe plus ou moins importante permet de modifier la structure du bois (Hale *et al.*, 1999), ses propriétés physiques (Acuña *et al.*, 2014), et sa composition chimique (Canas *et al.*, 2007; Canas, Leandro, *et al.*, 2000), qui confèrent un caractère distinct aux vins et eaux-de-vie qui y sont vieillis.

Par ailleurs, les techniques d'élevage jouent également un rôle dans l'obtention de Cognac de qualité. En effet, le choix de la barrique à utiliser pour la création de Cognacs aux caractères uniques est primordial, mais des spécificités sont également retrouvées lors de l'élevage dans les chais. La gestion du vieillissement engendre des différences dans l'extraction des composés du bois. En effet, à la maison Courvoisier comme dans les autres maisons de Cognac, un système de rotation des eaux-de-vie dans les fûts est utilisé comme suit : « *Initialement placée dans des fûts jeunes, très chargés en composés extractibles, l'eau-de-vie sera transférée vers des fûts « roux » ayant déjà contenu plusieurs jeunes eaux-de-vie et ne cédant plus de composés extractibles mais permettant la poursuite du vieillissement (évaporation, oxydation, etc.). L'opération qui consiste à changer l'eau-de-vie de fût au cours de son vieillissement est appelée rotation* » (BNIC).

Aux vues du manque actuel de connaissances sur l'influence de ces facteurs, ce chapitre s'intéressera à une meilleure compréhension de la fabrication des barriques et des techniques d'élevage des eaux-de-vie sur les teneurs en ellagitanins. Les résultats seront divisés en trois parties, qui consisteront premièrement en l'influence du séchage et de l'arrosage des merrains sur les teneurs en ellagitanins C-glucosidiques ; deuxièmement, en l'étude du potentiel d'extraction des barriques selon différentes modalités d'élevage des eaux-de-vie ; et

troisièmement, en une étude approfondie sur l'influence de la chauffe de la barrique sur les teneurs en ellagitanins dans les eaux-de-vie. Afin d'obtenir une vision plus complète de l'effet de ce facteur sur les eaux-de-vie de Cognac vieilles en barrique, un quatrième point sera abordé dans ce chapitre, à travers l'étude de la composition volatile du bois.

1. EVOLUTION DES ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES DANS LE BOIS DE CHENE AU COURS DU SECHAGE DES BOIS EN TONNELLERIE

1.1. Introduction

Des études sur le séchage et son impact sur l'évolution de la composition phénolique du bois ont été réalisées à la fin des années 1990 (Chatonnet, Boidron, & Dubourdiou, 1994) et au début des années 2000 (Vivas *et al.*, 2001) mais peu de travaux récents ont vu le jour. Une étude en 2015 s'est intéressée au processus de séchage des merrains en fonction de différents facteurs tels que le type de grain, l'indice polyphénolique ou encore l'âge du bois pour des merrains provenant d'Indre (Le Floch, 2015). Au cours des six premiers mois, le séchage du bois est rapide. Pendant cette période, le lessivage soit par la pluie soit par l'arrosage est le plus efficace car plusieurs composés hydrosolubles comme les ellagitanins peuvent être entraînés. Plus particulièrement, le pourcentage en composés extractibles diminue au cours de la première année de séchage. Peu d'études se sont intéressées aux bois destinés à la fabrication de barriques pour le vieillissement des eaux-de-vie de Cognac, ainsi qu'à l'étude d'un arrosage contrôlé afin de voir son impact sur les teneurs en ellagitanins. Toutefois, Chatonnet *et al.* (1994) ont étudié la microflore implantée dans les merrains stockés à l'air libre sur le parc de la tonnellerie Seguin-Moreau de Cognac. Ils ont montré que les microorganismes semblent pouvoir se localiser seulement sur les couches superficielles des merrains (0-4 mm de profondeur), et qu'ils n'interviennent donc pas en profondeur dans le bois.

Etant donné que l'étape d'affinage du bois est primordiale pour la fabrication des barriques et comme l'arrosage n'était plus utilisé à la Maison Courvoisier depuis 2003 pour des raisons matérielles indépendantes de ses effets sur le bois, ce travail était important afin d'étudier l'évolution des ellagitanins sur les merrains de leur parc à bois, destinés à la fabrication de barriques pour le vieillissement de leurs eaux-de-vie. Il était intéressant de voir l'impact d'un arrosage contrôlé sur les teneurs en ellagitanins, afin de voir si un arrosage automatique entraînait ou non un lessivage plus important des ellagitanins, ainsi que d'observer quelles étaient les molécules d'ellagitanins les plus lessivées.

L'ensemble des résultats de cette étude a été basé sur un plan expérimental mis en place au début de la thèse, et dont le suivi ainsi que les analyses ont été réalisés durant ces trois années de thèse. Cette étude a permis de déterminer la composition en ellagitanins dans les merrains au cours du séchage et de voir à la fois l'impact de l'origine géographique et celui d'un arrosage contrôlé sur les teneurs en ellagitanins. De plus, sur le parc à bois les merrains sont empilés pour former des palettes, lesquelles sont empilées deux à deux durant toute la durée du séchage.

L'impact de la position de la palette a également été étudié afin de voir si les teneurs en ellagitanins variaient ou non selon la position de la palette.

1.2. Plan expérimental

Afin de réaliser cette étude, des merrains en cours de séchage sur le parc à bois de la Maison Courvoisier à Jarnac ont été utilisés. Il s'agissait de huit palettes de merrains de chêne français, provenant de deux origines géographiques différentes : Indre et Dordogne. Dans les deux cas, les chênes sont un mélange de *Q. robur* et *Q. petraea* car ces deux espèces cohabitent dans ces forêts. Nous avons alors quatre palettes de merrains de chaque origine géographique empilées deux à deux. Deux des quatre palettes de chaque origine géographique ont été arrosées durant l'été de juin à septembre chaque année afin d'étudier l'arrosage au cours du séchage (Figure 13). Pour voir si l'arrosage avait une influence sur la composition en ellagitanins, deux arrosages d'une durée de 120 minutes ont été réalisés chaque jour ; une heure le matin et une heure le soir. L'arrosage a été réalisé grâce à un tourniquet qui permettait de mimer des pluies de 10 mm/h. Cette modalité a été décidée après une étude préliminaire au sein du laboratoire de la maison Courvoisier. Les eaux d'un arrosage continu avaient été récupérées et la teneur en polyphénols totaux mesurée au cours de l'arrosage. Les résultats avaient montré que les concentrations en polyphénols diminuaient fortement lors des premières heures d'arrosage, pour ensuite réaugmenter légèrement lorsque le bois séchait. Ce phénomène pourrait être dû à des interactions ayant lieu dans le bois, qui entraîneraient la migration des composés phénoliques qui pourraient de nouveau être lessivés lors du prochain arrosage. C'est pourquoi un arrosage discontinu a été choisi pour cette étude.

Les bois ont été mis en séchage en décembre 2018. Cinq prélèvements ont été réalisés dans le cadre de la thèse. Nous avons considéré le T₀ comme le bois frais et témoin avant arrosage (avril 2019), le T₁ au bout de six mois de séchage (octobre 2019), le T₂ à douze mois (avril 2020), le T₃ à dix-huit mois (octobre 2020) et le T₄ à vingt-quatre mois (avril 2021). Ce temps de séchage correspond au temps de séchage moyen utilisé en tonnellerie car généralement les merrains sèchent de douze à trente-six mois.

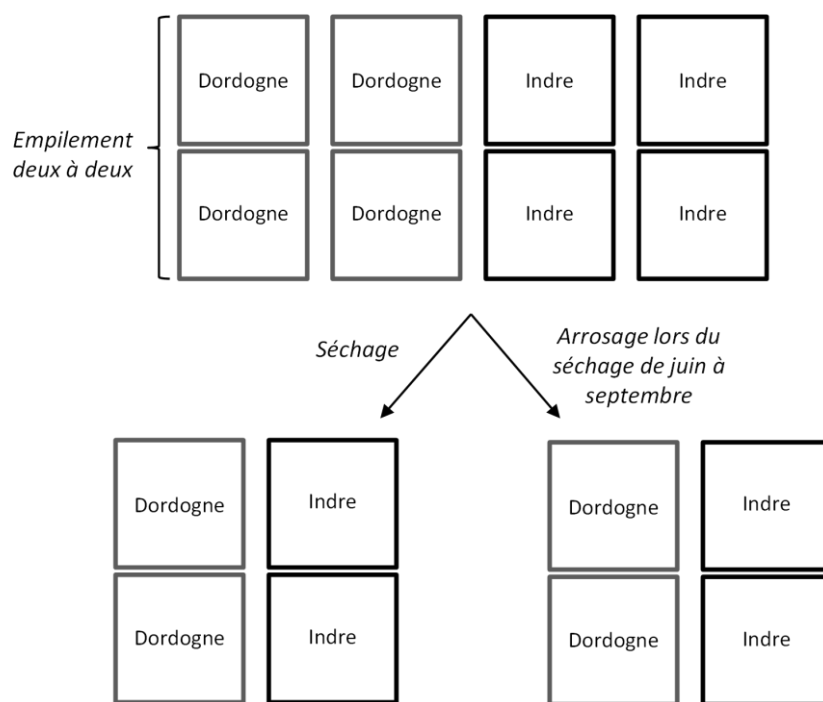


Figure 13. Schéma du plan expérimental du séchage et de l'arrosage des merrains

1.3. Optimisation de l'échantillonnage

Afin d'optimiser au mieux l'échantillonnage pour l'ensemble de l'étude et afin d'être représentatifs de la composition en ellagitanins dans les merrains sur l'ensemble d'une palette, une étude préliminaire a été réalisée.

Pour cela, une palette en cours de séchage depuis trente-six mois a été utilisée. Neuf échantillons de merrains ont été prélevés sur l'ensemble de la palette : trois merrains en haut (gauche, milieu, droite), trois merrains au milieu (gauche, milieu, droite) et trois merrains en bas (gauche, milieu, droite), afin de voir si la position du merrain sur la palette avait une influence sur la concentration en ellagitanins. Les résultats ont été présentés dans le chapitre 1, dans la partie développement de la méthode de dosage des ellagitanins (cf article : validation of a mass spectrometry method to identify and quantify ellagitanins in oak wood and cognac during aging in oak barrels, p. 42). Il en est ressorti que la concentration en ellagitanins ne variait pas de façon significative d'un merrain à l'autre sur une même hauteur de palette (gauche, milieu, droite), mais variait de façon significative entre les différentes hauteurs de la palette (haut, milieu, bas). C'est pourquoi il a été choisi de réaliser les prélèvements sur trois merrains différents dans chaque palette de l'étude. C'est-à-dire que sur chacune des huit palettes, trois mêmes merrains ont été utilisés pour les différents prélèvements de l'étude, un merrain en haut de la palette, un au milieu et un en bas. A chaque prélèvement, 20 cm du merrain étaient sciés

comprenant 16 cm de purge et 4 cm pour effectuer les analyses. Le reste du merrain était réinséré dans la palette pour le prélèvement d'après.

1.4. Préparation des échantillons de bois pour analyse

Huit palettes de merrains en cours de séchage et d'arrosage servaient à l'étude, avec pour chacune, trois prélèvements de merrains. Nous avons donc à chaque prélèvement 24 morceaux de merrains à analyser. Pour plus de robustesse, chaque merrain a été analysé en duplicata.

La première étape consistait à faire sécher les morceaux de merrains dans une pièce à température ambiante afin de faire baisser leur taux d'hygrométrie à 18 % environ, taux correspondant à celui des merrains lorsqu'ils sont récupérés à la fin du séchage avant leur transformation en douelles. Cette étape durait environ deux semaines et le taux d'hygrométrie était mesuré à l'aide d'un hygromètre. Une fois le bon taux d'hygrométrie obtenu, les merrains étaient transformés en sciure fine à l'aide d'un banc de sciage comprenant un séparateur cyclonique de sciure en acier inoxydable ainsi qu'un collecteur en verre. Il était ensuite nécessaire d'extraire les ellagitanins du bois pour les analyser. Le chapitre 1 présentait l'utilisation d'un extracteur ASE pour l'extraction solide-liquide des ellagitanins. Cependant, un nouveau protocole expérimental a été mis en place pour un gain de temps dans l'analyse des échantillons. Pour l'analyse des 24 merrains en duplicata, soit 48 échantillons de sciure, des extractions solide-liquide à l'aide d'une table d'agitation ont été réalisées en adaptant le protocole utilisé à l'extracteur. Etant donné que pour 4 g de sciure à l'extracteur 250 mL de solvant étaient récupérés, les mêmes proportions ont été gardées. 1 g de sciure était donc placé dans un pot en verre ambré, et mis en suspension dans 62,5 mL d'un mélange acétone (70 %) et eau (30 %), le tout fermé hermétiquement et placé sous agitation 72 h à 215 tr/min. Différents temps de contact ont été testés, tels que le protocole établi par Jouin (2019) pour l'extraction des tanins couronnes qui consistait à laisser la poudre sous agitation 16h, puis à récupérer le surnagent et le congeler, remettre du solvant et agiter 8h et recommencer l'opération pour 16h d'agitation. Cette technique a donc été testée pour les extraits de bois en reproduisant ces cycles plusieurs jours jusqu'à l'extraction maximale des ellagitanins. Les résultats de cette méthode ainsi que ceux obtenus avec l'extracteur ont été comparés, et la méthode qui a finalement été choisie, consiste à mettre la sciure en suspension dans la totalité du solvant d'un coup et sous agitation 3 jours. A la fin du protocole d'extraction, le surnagent de chaque échantillon a été récupéré.

1 mL de chaque surnagent était évaporé à sec et repris dans 1 mL d'eau milliQ, filtré avec un filtre 0,45 µm avant d'être injecté en HPLC-Triple quadripôle (Figure 14). Le reste du surnagent

était évaporé à sec, repris dans de l'eau, congelé et lyophilisé, afin d'obtenir l'extrait sec de bois chargé en ellagitanins pour d'autres expérimentations.



Figure 14. Protocole expérimental pour l'analyse des bois

Le gradient HPLC et les conditions expérimentales du triple quadripôle étaient décrites dans le Chapitre 1 (p. 42). Les concentrations en ellagitanins du bois ont été exprimées en mg/L en équivalent de vescalagine, puis transformées en mg/g de bois sec.

Les traitements statistiques des résultats ont été effectués avec le logiciel Rstudio (Version 1.3.959, 2020). La normalité et l'homoscédasticité des résidus ont été évaluées pour tous les paramètres en utilisant respectivement le test de Shapiro-Wilk et le test de Levene. Lorsque les conditions permettaient d'utiliser des tests paramétriques, l'ANOVA (une analyse de variance) était utilisée afin d'évaluer le degré des différences significatives ($p \leq 0,05$) pour plus de deux échantillons. Le test de Tukey était ensuite utilisé, afin d'identifier les différences à l'aide de lettres de significativité. Si les conditions exigeaient l'utilisation de tests non-paramétriques, le test de Kruskal-Wallis était réalisé, ainsi que celui de Pairwise-Wilcox comme test post-hoc.

1.5. Influence de l'origine géographique du bois sur les teneurs en ellagitanins

Afin d'étudier l'évolution de la composition en ellagitanins au cours du séchage et de l'arrosage du bois, nous avons tout d'abord comparé le séchage pour les deux origines géographiques Dordogne et Indre. Pour cela, la concentration des huit ellagitanins C-glucosidiques a été mesurée à chaque temps de prélèvement et pour les deux origines géographiques comme le montre la Figure 15. Les résultats obtenus montrent que les deux origines géographiques Dordogne et Indre présentent des différences significatives sur les concentrations des huit ellagitanins entre le premier prélèvement correspondant au bois frais et le cinquième prélèvement correspondant à 24 mois de séchage. De plus, les bois provenant d'Indre semblent moins riches en ellagitanins que les bois de Dordogne car, pour chaque temps de séchage, la concentration en ellagitanins est toujours plus élevée en Dordogne.

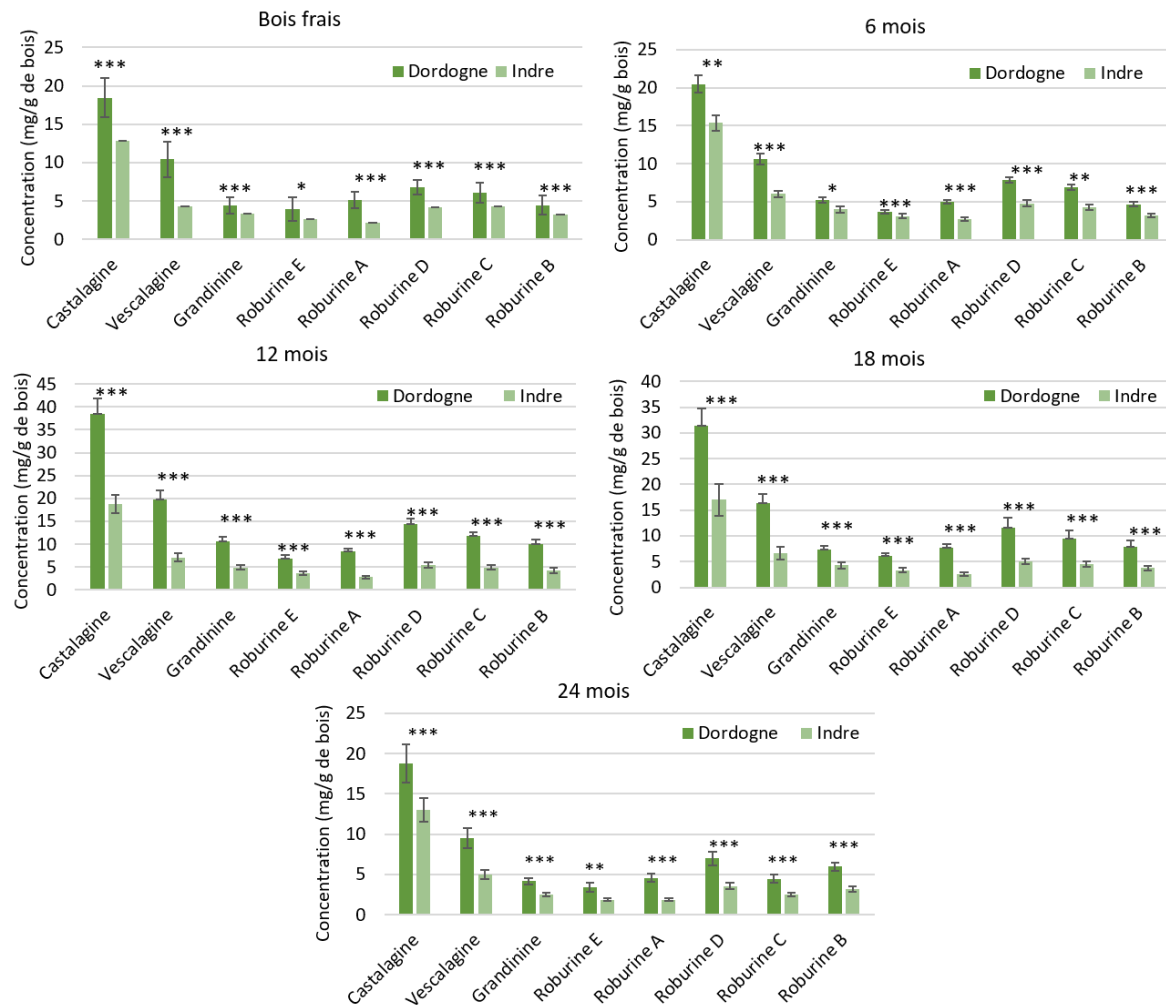


Figure 15. Influence de l'origine géographique des merrains sur les concentrations en ellagitanins C-glycosidiques pour chaque temps de séchage (Bois frais, 6 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois).

NB : ***significatif à 0,1 % ; **significatif à 1 % ; *significatif à 5 %

Même si les deux espèces de chêne *Q. robur* et *Q. petraea* cohabitent dans les deux forêts, il a été montré dans plusieurs études que la Dordogne possédait majoritairement des chênes pédonculés (*Q. robur*) alors que l'Indre possédait principalement des chênes sessiles (*Q. petraea*) (Doussot *et al.*, 2002). Or ces deux espèces de chêne présentent une taille de grain différente. En effet, *Q. robur* serait plutôt de type grain moyen / gros grain, alors que *Q. petraea* serait plutôt grain fin / grain moyen (Chatonnet & Dubourdieu, 1998a; Zamora, 2019). La taille de grain influe sur les teneurs en composés chimiques du bois, et notamment sur les teneurs en ellagitanins. Les données bibliographiques ont montré que plus le grain est large, plus la quantité d'ellagitanins libérée est importante (Jordão *et al.*, 2007). En effet, Doussot *et al.* (2002) ont montré que l'on retrouvait des teneurs en ellagitanins d'environ 51 mg/g de bois en Dordogne (majoritairement gros grain) contre 22 mg/g de bois pour l'Indre (majoritairement

grain fin). Ces résultats sont en accord avec les résultats que l'on a observés dans notre étude. Nous avons alors regardé plus en détail la taille du grain sur les pièces de merrains étudiées, et avons noté que sur douze merrains de Dordogne, onze merrains étaient grain moyen / gros grain et sur les douze merrains d'Indre, dix merrains étaient grain fin / grain moyen, comme attendu. Toutefois, la taille du grain peut varier considérablement au sein d'une même espèce en fonction de l'endroit où l'arbre est situé. Par exemple, le *Q. petraea* cultivé dans l'Allier est considéré comme ayant un grain particulièrement fin alors que le *Q. petraea* des Vosges a un grain moyen (Vivas *et al.*, 2001). De plus, la granulométrie varie significativement entre les arbres d'une même forêt (Polge & Keller, 1973).

Une autre étude présentait les teneurs en ellagitanins individuels au sein de plusieurs espèces de chêne et pour plusieurs origines géographiques après trois ans de séchage. Dans les chênes français, *Q. robur* présentait des concentrations en ellagitanins supérieures à *Q. petraea* mais une variabilité très importante était retrouvée dans tous les cas, engendrant ainsi peu ou pas de différences significatives entre les espèces de chêne ou les différentes origines (Cadahía, Varea, *et al.*, 2001). De plus, il avait été montré que l'espèce de chêne impactait significativement la teneur en ellagitanins tout au long du processus de séchage et de chauffe, mais pas l'impact de la provenance (Doussot *et al.*, 2002). Nos résultats montrent pourtant une différence significative entre les deux origines géographiques, mais l'étude ne va que jusqu'à deux ans de séchage. Il serait intéressant de voir si à trois ans, les résultats appuieraient les données de la bibliographie.

Etant donné que l'origine géographique influençait les teneurs en ellagitanins C-glucosidiques sur l'ensemble du processus de séchage, l'influence du séchage et de l'arrosage ont été traitées indépendamment pour chaque origine géographique.

1.6. Influence de la position de la palette sur les teneurs en ellagitanins

Tout d'abord, l'impact de la position de la palette sur les concentrations en ellagitanins a été étudié pour chaque origine géographique, afin de savoir s'il existait une reproductibilité entre deux palettes superposées. Pour cela, nous avons réalisé des tests statistiques permettant d'étudier l'interaction entre les deux facteurs « position de la palette » et « arrosage / séchage », afin de voir si ces deux facteurs étaient indépendants ou corrélés. L'ANOVA de l'interaction entre la position de la palette (dessus / dessous) et l'arrosage a donc été réalisée afin de voir si les deux palettes du dessus puis du dessous de chaque origine pouvaient être moyennées (dans le cas où la *p-value* de l'interaction est $\leq 0,05$), ou s'il fallait seulement comparer les palettes deux à deux, c'est-à-dire pour chaque origine géographique, comparer la position de la palette

pour la modalité séchage indépendamment de la modalité séchage avec arrosage (dans le cas où la *p-value* de l'interaction est $\geq 0,05$).

Etant donné que pour chaque temps de prélèvement l'interaction n'était pas significative (*p-value* $\geq 0,05$), les palettes ont été comparées deux à deux pour chaque modalité et chaque origine géographique.

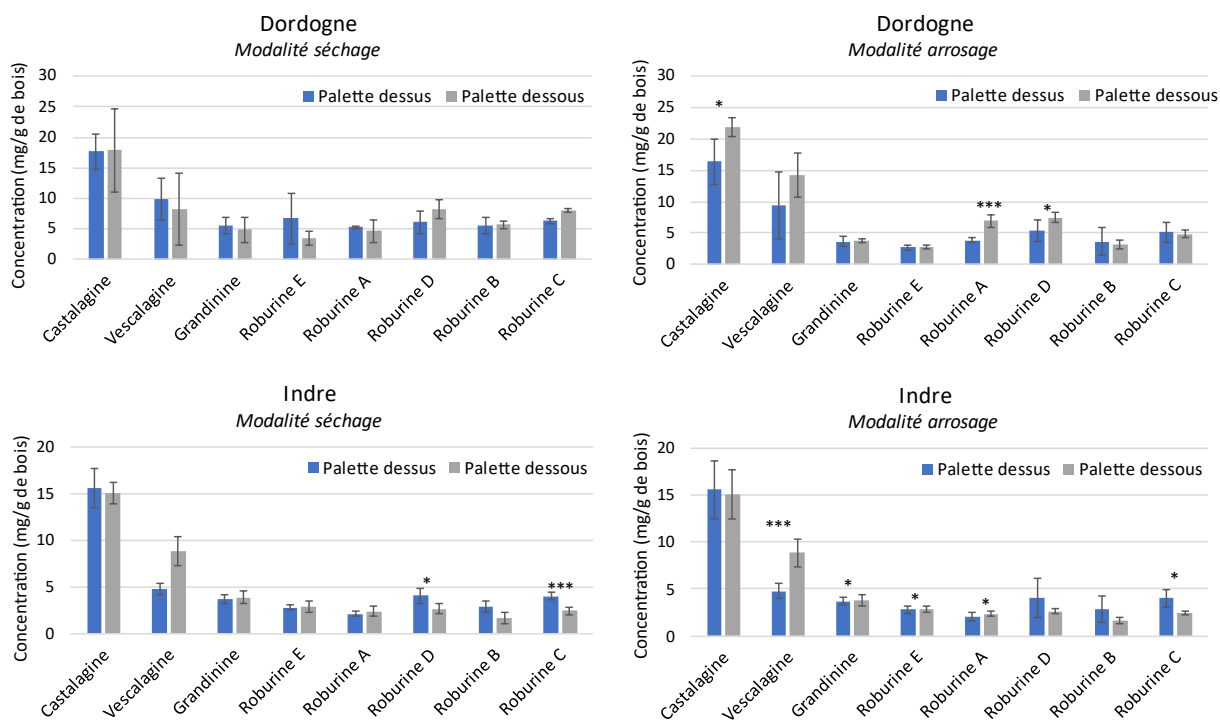


Figure 16. Influence de la position de la palette sur les concentrations en ellagitanins C-glucosidiques pour T0 : Bois frais.

NB : ***significatif à 0,1 % ; **significatif à 1 % ; *significatif à 5 %

La Figure 16 représente les concentrations en ellagitanins C-glucosidiques dans le bois frais pour chaque palette, en fonction de l'origine géographique et des modalités séchage et arrosage. Les teneurs en ellagitanins peuvent donc être comparées entre les deux positions de palettes. Au temps de prélèvement « Bois frais », considéré comme le témoin avant arrosage, aucune différence significative n'est retrouvée pour la modalité séchage des deux palettes de Dordogne, mais des différences significatives sont retrouvées pour la castalagine, la roburine A et la roburine D pour la modalité arrosée de la Dordogne. En effet, des teneurs plus importantes pour ces trois molécules sont retrouvées dans la palette du dessous. Pour l'Indre, les palettes de la modalité séchage présentent des différences significatives en roburines D et C : les concentrations de ces deux composés sont inférieures dans la palette du dessous. En revanche, la modalité arrosée des bois d'Indre présente des différences significatives en ellagitanins en fonction de la position de la palette, pour cinq des huit ellagitanins. Pour les deux origines

géographiques, au stade « Bois frais », ces différences peuvent être expliquées par la variabilité du bois de chêne de départ qui est importante, car à ce stade les merrains de la modalité arrosée n'ont pas encore été arrosés et pourtant les différences de concentrations retrouvées entre les palettes du dessus et du dessous ne sont pas les mêmes pour les deux modalités.

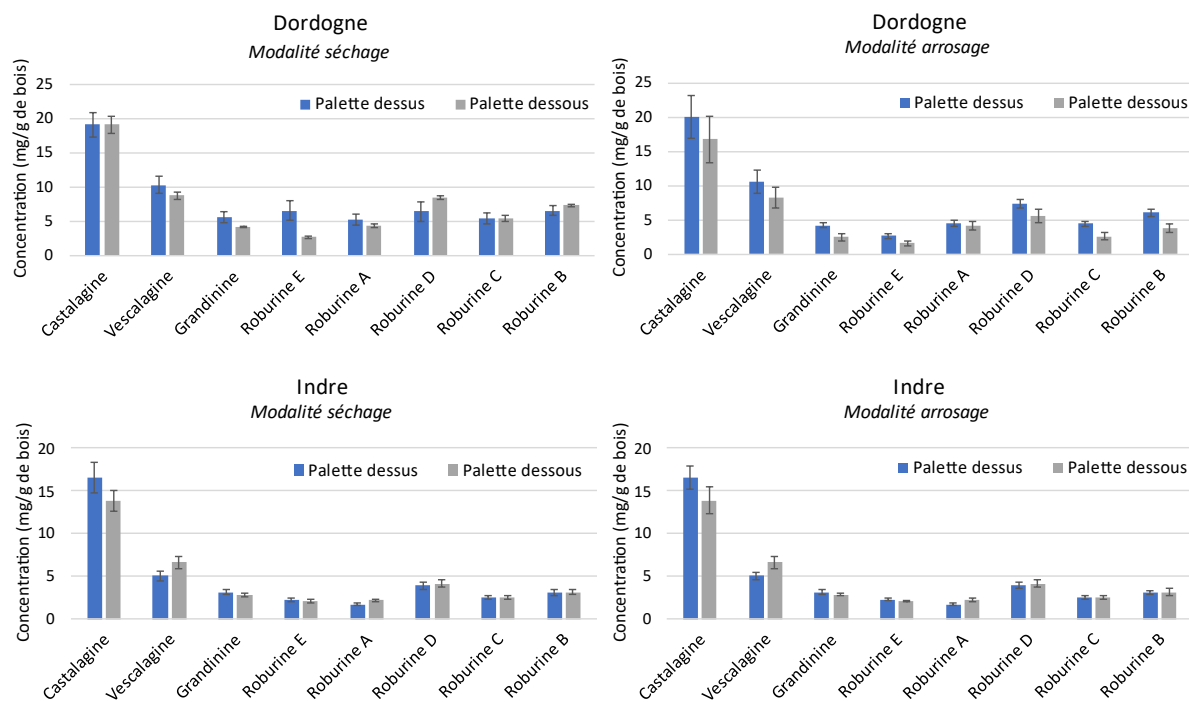


Figure 17. Influence de la position de la palette sur les concentrations en ellagitanins C-glucosidiques à T4 : 24 mois de séchage.

NB : ***significatif à 0,1 % ; **significatif à 1 % ; *significatif à 5 %

La comparaison des concentrations en ellagitanins selon la position de la palette pour toutes les modalités a également été représentée à 24 mois de séchage (Figure 17). La position de la palette n'influe pas sur les teneurs en ellagitanins, que ce soit pour les merrains d'Indre et de Dordogne et quelle que soit la modalité de séchage. En effet, aucune différence significative n'a été retrouvée entre la palette du dessus et du dessous et ce, pour tous les ellagitanins. Les deux palettes de chaque modalité pourront donc être moyennées pour l'étude du séchage et de l'arrosage au cours du temps.

1.7. Influence du séchage sur la composition en ellagitanins

La cinétique d'évolution de la concentration en ellagitanins au cours du séchage a également été étudiée. Il est apparu que chacun des ellagitanins se comporte de la même manière au cours du séchage, c'est pourquoi pour les deux origines Dordogne et Indre, seule la cinétique d'évolution de la somme des huit ellagitanins au cours du temps de séchage a été représentée

(Figure 18). Il apparaît que les concentrations en ellagitanins augmentent lors de la première année du séchage de manière significative, puis diminuent lors de la deuxième année, que ce soit pour la Dordogne ou pour l'Indre. Le maximum de concentration de la somme des huit ellagitanins à 12 mois est à $108,64 \pm 3,78$ mg/g de bois pour la Dordogne et à $62,64 \pm 8,55$ mg/g de bois pour l'Indre, soit pratiquement deux fois moins. Les teneurs en ellagitanins à 24 mois de séchage sont proches de celles de départ étant donné qu'il n'y a pas de différences significatives de la concentration en ellagitanins dans le bois frais et dans le bois à 24 mois de séchage. En effet, pour la Dordogne, la concentration de la somme des huit ellagitanins était de $59,72 \pm 8,50$ mg/g de bois dans le bois frais et de $63,02 \pm 4,55$ mg/g de bois à 24 mois de séchage ; pour l'Indre, le bois frais contenait $37,69 \pm 5,30$ mg/g de bois de la somme des huit ellagitanins et $29,14 \pm 3,71$ mg/g de bois à 24 mois.

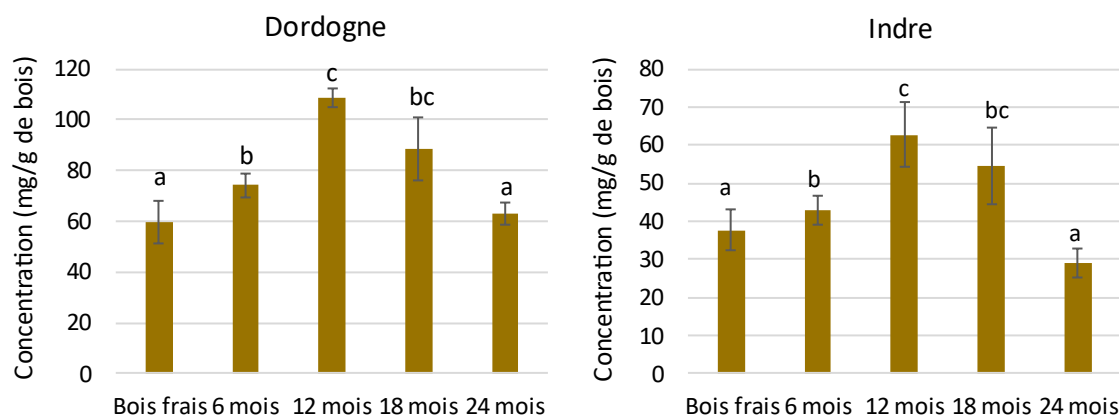


Figure 18. Evolution de la concentration de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques au cours du temps de séchage pour les deux origines géographiques.
NB : les lettres différentes représentent les différences significatives à 5 %.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par Le Floch (2015) qui montrait également une diminution de la concentration de chacun des ellagitanins au cours du séchage entre 12 et 24 mois. Des études précédentes ont également montré cette diminution entre la première année et la troisième année de séchage pour des bois espagnols (Cadahía, Varea, *et al.*, 2001; Fernández de Simón *et al.*, 1999).

Plus particulièrement, nous nous sommes intéressés à l'évolution de chacun des huit ellagitanins au cours du séchage pour les bois de Dordogne (Figure 19) et d'Indre (Figure 20).

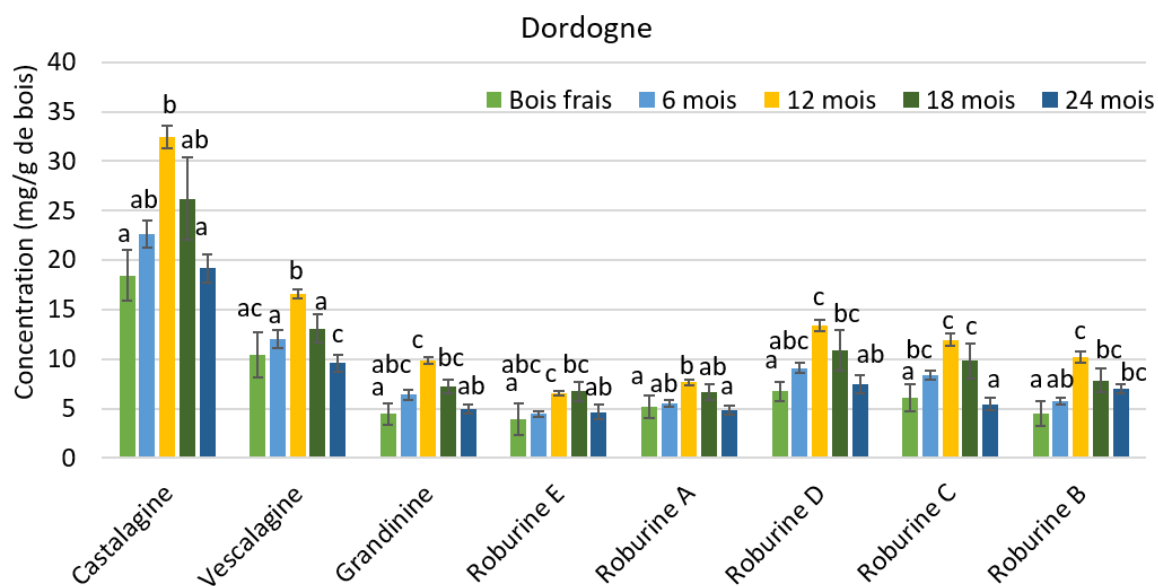


Figure 19. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains provenant de Dordogne pour chaque temps de séchage.

NB : les lettres différentes représentent les différences significatives à 5 %.

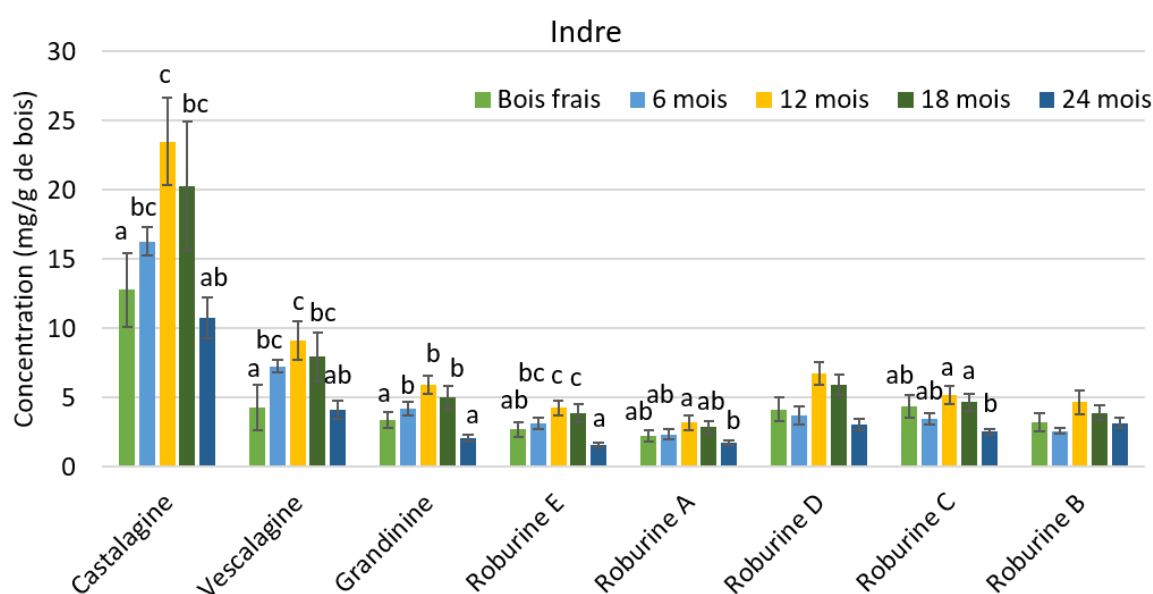


Figure 20. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains provenant d'Indre pour chaque temps de séchage.

NB : les lettres différentes représentent les différences significatives à 5 %.

Le séchage a une influence significative sur les teneurs en ellagitanins car ils sont tous impactés par ce dernier, excepté la roburine D et la roburine B qui ne semblent pas évoluer significativement au cours du séchage pour l'origine géographique Indre. La diminution significative de la concentration en ellagitanins au cours de la deuxième année de séchage peut être expliquée par différents phénomènes détaillés dans la bibliographie (Fernández de Simón

et al., 1999). Tout d'abord, il est connu que les ellagitanins sont des composés hydrosolubles et qu'ils peuvent donc être entraînés par la pluie, c'est le phénomène de lessivage. Ce sont également des composés sensibles aux phénomènes d'hydrolyse chimique et d'oxydation (Chatonnet, Boidron, & Dubourdiou, 1994). En effet, ces réactions peuvent conduire à des polymères bruns insolubles qui impliquent notamment les monomères vescalagine et castalagine et qui peuvent avoir lieu lors du séchage du bois (Charrier *et al.*, 1995; Klumpers *et al.*, 1994). Un autre type de phénomène impliquant les ellagitanins est la dégradation enzymatique produite par les champignons (Chatonnet, Boidron, Dubourdiou, *et al.*, 1994). Une étude récente a montré la formation de deux métabolites d'ellagitanins C-glucosidiques, les quercusnines A et B, provenant du chêne japonais qui seraient formés par la dégradation des ellagitanins par des champignons (Omar *et al.*, 2014).

En revanche, lors de la première année de séchage, la teneur en ellagitanins augmente de manière significative, contrairement à l'étude réalisée par Fernández de Simón *et al.*, 1999 qui ont trouvé que les teneurs en ellagitanins diminuaient fortement (59 à 86 % de diminution) lors de la première année du séchage tout comme une autre étude avant eux (Chatonnet, Boidron, Dubourdiou, *et al.*, 1994). Normalement, la concentration en ellagitanins dans des merrains ne peut pas augmenter. Il s'agit de composés hydrosolubles et oxydables qui diminuent au contact de l'eau de pluie et de l'oxygène. Ce sont des molécules formées par une voie de biosynthèse dans les arbres et cette dernière ne peut pas avoir lieu dans des merrains. Toutefois, ces résultats pourraient être expliqués par la présence de précurseurs d'ellagitanins dans les merrains ou à des liaisons entre les molécules d'ellagitanins et d'autres composés de faible poids moléculaire qui libèreraient des ellagitanins lors du séchage du bois, par des phénomènes d'hydrolyse ou d'oxydation. Par ailleurs, une différence dans le taux d'humidité des merrains pourrait expliquer nos résultats. En effet, les résultats sont exprimés en mg/g de bois à l'instant T et non pas en mg/g de bois sec, car même si le taux d'hygrométrie a été mesuré sur les merrains avant broyage, le taux correspondait à celui à la surface du merrain qui confirmait qu'il n'était pas gorgé d'eau mais il aurait fallu beaucoup plus de temps pour que l'intérieur du merrain soit sec. Peut-être qu'une mesure du taux d'hygrométrie après broyage des échantillons aurait été plus pertinent, ou bien il aurait fallu placer les morceaux de merrains dans une étuve à 40 ou 60 °C afin d'être sûr de baisser le taux d'hygrométrie de l'ensemble de la pièce de bois avant analyse, et ainsi homogénéiser tous les prélèvements de bois. Etant donné que les poudres n'étaient pas forcément au même taux d'humidité, leur poids n'était pas le même, ce qui peut entraîner des différences de concentrations en ellagitanins. En effet, le taux d'humidité diminue fortement lors des premiers mois de séchage. Masson *et al.* (2000) ont montré qu'en trois mois de séchage

à l'air libre, des merrains avaient perdus jusqu'à 40 % d'humidité, ce qui peut donc entraîner une augmentation de la concentration en ellagitanins dans le bois lors de l'analyse. Pour les bois de Dordogne, une augmentation de 45 % de la teneur en ellagitanins a été observée et pour ceux d'Indre, une augmentation de 40 %. Ces résultats sont donc en accord avec ceux de Masson *et al.* (2000). Comme le taux d'hygrométrie ne varie plus autant lorsque les fibres du bois se sont resserrées, les résultats de la deuxième année de séchage suivent les résultats de la littérature. De plus, le bois reste sur parc 24 à 36 mois, donc même si des discordances sont retrouvées entre les résultats de cette étude et les données bibliographiques pour la première année du séchage, les résultats obtenus lors de la deuxième année sont bien en accord avec les études réalisées jusqu'à présent sur le séchage du bois en tonnellerie.

1.8. Influence de l'arrosage pendant le séchage sur la composition en ellagitanins

Lors du séchage du bois, les pluies peuvent entraîner le lessivage de plusieurs composés, entraînant ainsi une diminution des teneurs en composés hydrosolubles du bois. Mais un arrosage artificiel est également souvent mis en place dans les parcs de séchage afin de maintenir les merrains en bon état, c'est-à-dire pour éviter entre autres la présence de fissures sur les merrains s'ils sèchent trop rapidement. Cependant, l'arrosage des merrains demande une forte consommation d'eau et il n'est pas toujours possible d'arroser. L'objectif d'avoir ajouté une modalité arrosage au cours du séchage des merrains était de savoir d'un point de vue chimique si l'arrosage était très impactant sur la composition en ellagitanins au cours du séchage, et s'il permettait un lessivage plus important de ces composés au cours du temps.

Cette modalité a donc été étudiée pour les deux origines géographiques indépendamment l'une de l'autre, comme pour la modalité séchage. La Figure 21 présente l'évolution de la concentration de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques au cours du séchage avec arrosage pour les bois de Dordogne et d'Indre.

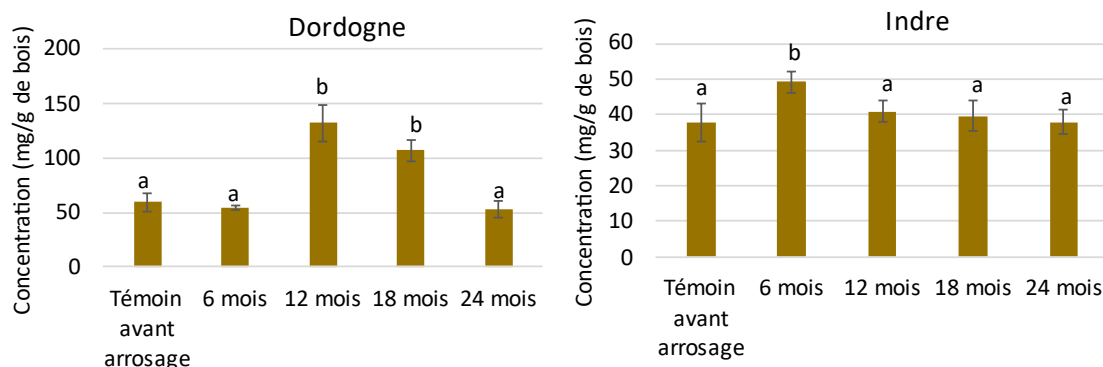


Figure 21. Evolution de la concentration de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques au cours du séchage avec arrosage pour les deux origines géographiques.
NB : les lettres différentes représentent les différences significatives à 5 %.

L'évolution des ellagitanins pour les bois de Dordogne arrosés est la même que celle des bois de Dordogne et d'Indre sans arrosage, c'est-à-dire qu'une augmentation significative de la teneur en ellagitanins est retrouvée lors de la première année, puis les concentrations diminuent jusqu'à 24 mois. En effet la concentration de la somme des huit ellagitanins était de $132,06 \pm 17,06$ mg/g de bois à 12 mois et de $52,79 \pm 8,01$ mg/g de bois à 24 mois de séchage. Les ellagitanins ont donc été lessivés à hauteur de 60 % lors de la deuxième année du séchage avec arrosage contre 42 % lors du séchage sans arrosage. Un arrosage de deux heures par jour durant la période estivale a donc significativement impacté les teneurs en ellagitanins dans ces bois et a permis une diminution des teneurs en ellagitanins de 20 % supérieure à celles dans les merrains non arrosés. Plus particulièrement, pour l'origine Dordogne, l'arrosage au cours du séchage impacte significativement la teneur de chacun des huit ellagitanins (Figure 22).

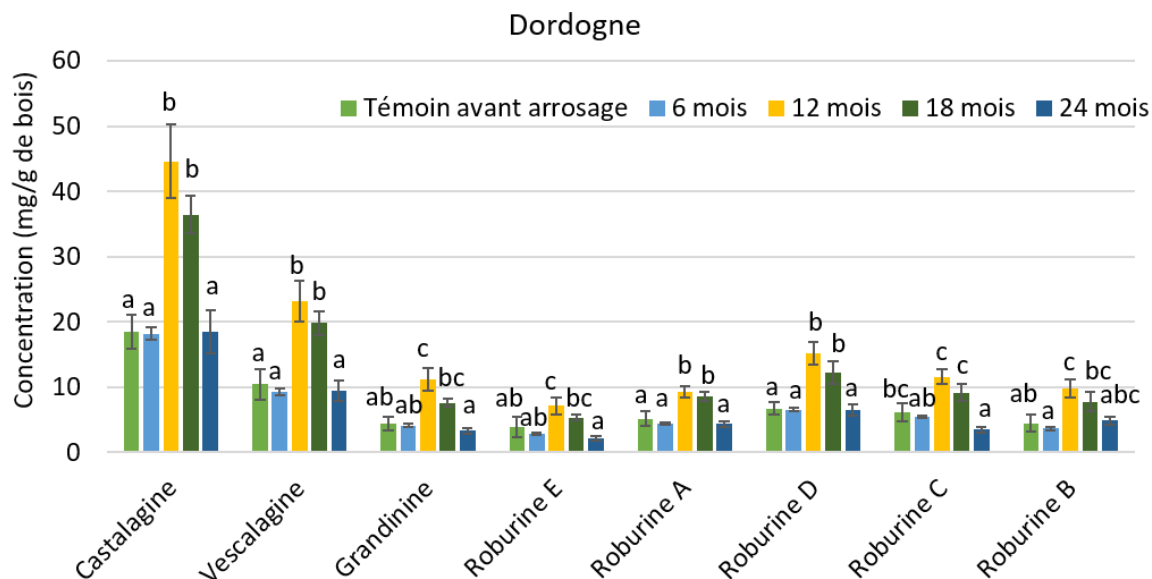


Figure 22. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains arrosés provenant de Dordogne pour chaque temps de séchage.

NB : les lettres différentes représentent les différences significatives à 5 %.

Concernant l'origine géographique Indre, l'arrosage des merrains ne semble pas impacter l'évolution des ellagitanins de la même manière. Il influence significativement leurs teneurs entre 6 mois et 12 mois par une diminution de la teneur en ellagitanins, mais entre 12 mois et 24 mois de séchage, les teneurs en ellagitanins ne varient pas de façon significative (Figure 21). A 6 mois, la concentration de la somme des huit ellagitanins était de $49,17 \pm 3,13$ mg/g de bois et de $37,87 \pm 2,95$ mg/g de bois à 24 mois. L'arrosage a donc entraîné une perte de seulement 23 % des ellagitanins en 18 mois alors que le séchage sans arrosage pour les merrains de la même origine géographique avait entraîné une diminution des teneurs en ellagitanins de 54 % sur les 12 derniers mois. Plus particulièrement, seulement trois ellagitanins sur les huit sont impactés de façon significative par l'arrosage lors du séchage (Figure 23) : ce sont les monomères glycosylés grandinine et roburine E, ainsi qu'un dimère glycosylé, la roburine C.

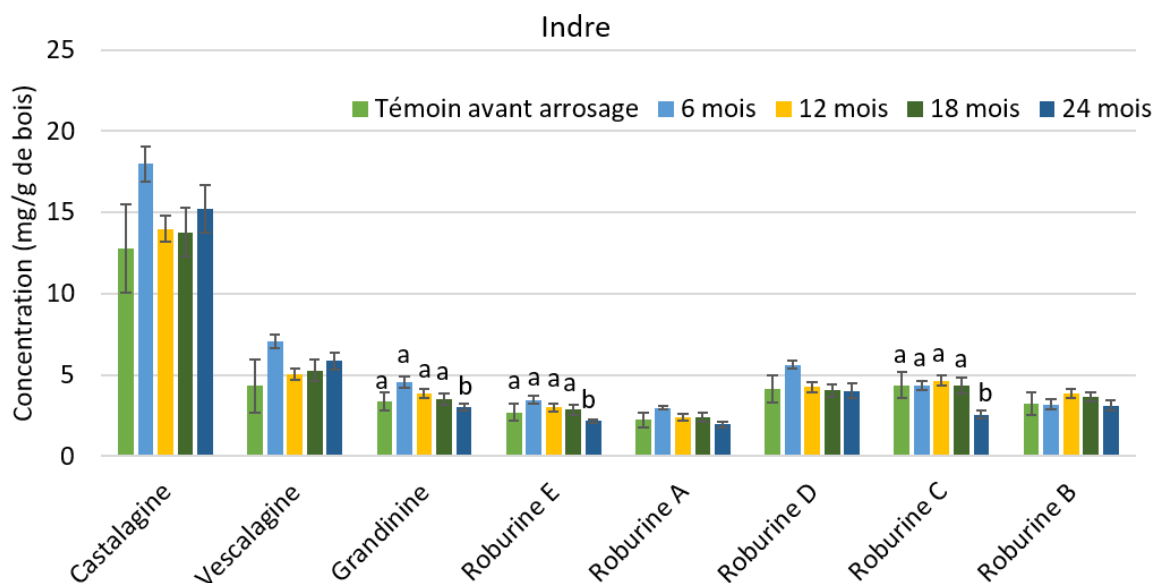


Figure 23. Evolution de la concentration en ellagitanins C-glucosidiques des merrains arrosés provenant d'Indre pour chaque temps de séchage.
NB : les lettres différentes représentent les différences significatives à 5 %.

1.9. Bilan du séchage et séchage avec arrosage sur le comportement des ellagitanins

Au regard des résultats concernant le séchage et l'arrosage lors du séchage, l'impact de ces facteurs sur les différents ellagitanins a été étudié plus en détail afin de savoir si certains ellagitanins étaient plus impactés lors du séchage et de l'arrosage que d'autres. Pour les deux origines géographiques, le pourcentage de chaque ellagitannin a été calculé après 12 mois et 24 mois de séchage, car c'est lors de la deuxième année de séchage que la diminution des teneurs en ellagitanins a été observée. La Figure 24 représente alors le pourcentage de chaque ellagitannin à ces deux temps de prélèvements, pour les deux origines Dordogne et Indre, en fonction des deux modalités séchage et séchage avec arrosage.

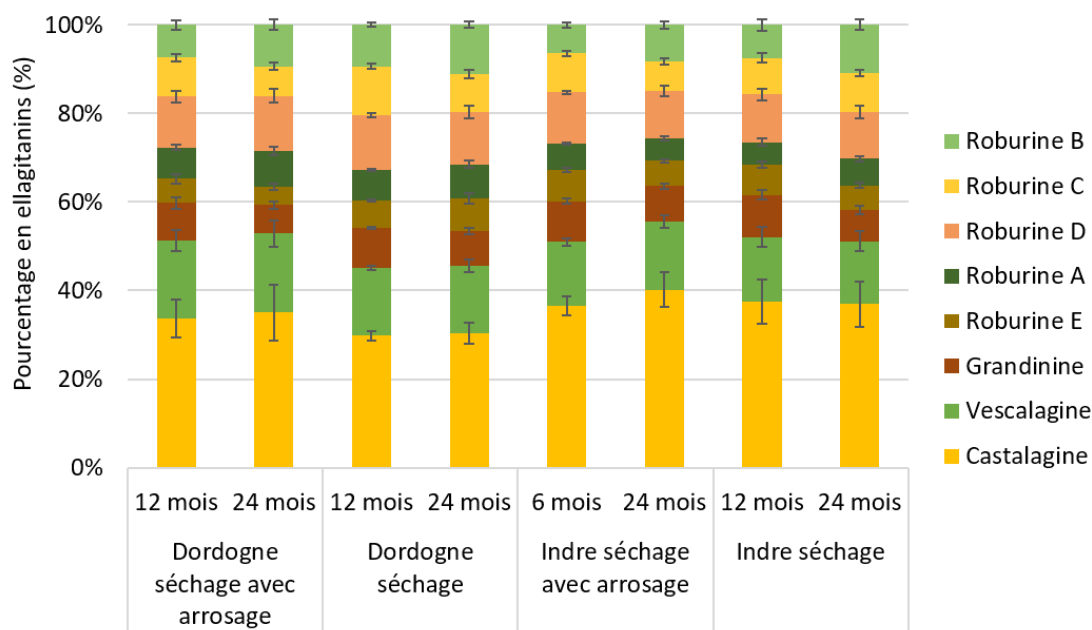


Figure 24. Pourcentage de présence de chaque ellagitanin dans les bois de Dordogne et d'Indre à deux temps de prélèvements pour les deux modalités séchage et séchage avec arrosage.

Concernant l'origine géographique Dordogne, nous avons comparé le pourcentage en ellagitanins entre 12 et 24 mois lors du séchage avec arrosage, et lors du séchage sans arrosage. Cette comparaison permettait de voir si certains ellagitanins étaient plus lessivés que d'autres lors du lessivage naturel par les pluies (modalité séchage) ou lors du séchage avec arrosage automatisé (modalité séchage avec arrosage). Les résultats obtenus montrent que l'arrosage automatique semble accentuer le lessivage de certaines molécules d'ellagitanins. La modalité séchage présente un lessivage de la grandinine et de la roburine C, car ce sont les deux composés qui voient leur pourcentage de présence diminuer respectivement de 1,2 % et de 2,39 %. La modalité avec arrosage engendre un lessivage plus important de la grandinine (diminution de 2,19 %), un lessivage de son isomère la roburine E (perte de 1,29 %) et également une perte de roburine C du même ordre de grandeur que pour la modalité séchage seul. En ce qui concerne l'origine géographique Indre, les mêmes comparaisons ont été effectuées. En revanche, pour la modalité arrosage, la différence du pourcentage de présence de chaque ellagitanin a été calculée entre 6 mois et 24 mois, car il semblait y avoir un décalage dans le lessivage des ellagitanins. En effet, comme montré précédemment, c'est à 6 mois que la teneur en ellagitanins était la plus élevée, et elle ne variait pas de façon significative entre 12 et 24 mois. De même que pour la Dordogne, l'arrosage automatique semble entraîner un lessivage plus important des ellagitanins. Lors du séchage, le lessivage par les pluies entraîne une diminution de la présence

des monomères glycosylés d'ellagitanins (perte de 2,33 % de grandinine et 1,35 % de roburine E). Lorsque l'arrosage automatique est utilisé sur les palettes, les dimères roburine A et D sont également lessivés, ainsi que le dimère glycosylé, la roburine C. Ce sont donc les monomères glycosylés qui semblent être les composés les plus hydrosolubles, suivis d'un dimère glycosylé. Les monomères vescalagine et castalagine, ainsi que les dimères, sont les composés les moins impactés par le lessivage.

1.10. Conclusion

Le travail de cette partie de la thèse s'est porté sur l'étude du comportement des ellagitanins du bois lors du processus de séchage sur le parc à bois. L'impact de la position de la palette, de l'origine géographique et aussi l'influence de l'arrosage ont été étudiés simultanément.

Plus particulièrement, la mise en place d'un plan d'expérimentation en conditions réelles nous a permis d'étudier l'évolution des ellagitanins à quatre temps de séchage différents : bois frais, 6 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois, selon différentes modalités.

Les résultats sur les merrains provenant de deux origines géographiques différentes, ont montré que les bois de Dordogne considérés comme étant majoritairement du genre *Q. robur*, soit un mélange de gros grains et grains moyens étaient plus riches en ellagitanins que les bois provenant d'Indre, considérés majoritairement comme étant du genre *Q. petraea*, soit un mélange de grains moyens et fins.

Concernant l'impact de la position de la palette, il a été montré que l'empilement deux à deux des palettes ne jouait pas un rôle sur l'évolution en ellagitanins au cours du séchage, démontrant ainsi un séchage homogène pour tous les bois.

Les résultats du séchage ont montré une forte diminution des teneurs en ellagitanins lors de la deuxième année du séchage. Concernant l'arrosage, les merrains arrosés chaque été ont présenté des teneurs en ellagitanins plus faibles que pour les merrains non arrosés aux mêmes dates. Un lessivage plus important des ellagitanins a donc lieu lors du séchage, lorsque les merrains sont arrosés, entraînant une perte en ellagitanins de 20 % supérieure aux merrains non arrosés. En prenant en compte le pourcentage de chaque ellagitanin retrouvé dans le bois, il a été possible de déterminer quelles molécules d'ellagitanins étaient les plus lessivées. Les monomères glycosylés et un des dimères glycosylés étaient les molécules les plus hydrosolubles, car ils étaient les plus impactés par l'arrosage au cours du séchage.

Bien que les teneurs en composés dans le bois varient énormément d'un chêne à l'autre même au sein d'une même forêt, ces résultats nous ont permis d'avoir un aperçu sur les teneurs en ellagitanins retrouvées dans les bois utilisés en tonnellerie. La deuxième partie de ce chapitre

va consister à étudier le potentiel d'extraction des barriques fabriquées à partir de merrains issus de ces deux mêmes origines géographiques.

2. ETUDE DE L'EXTRACTION DES ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES PAR LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC EN ROTATIONS : IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE

2.1. Introduction

Il existe actuellement en tonnellerie de nombreux types de chauffes, mais le niveau de chauffe reste généralement classé en trois catégories, léger, moyen ou fort. C'est toutefois le binôme température/temps appliqué à chaque bois qui permet l'obtention de barriques spécifiques (Madrera *et al.*, 2010; Sanz *et al.*, 2012). A ce jour, l'effet de la chauffe sur les teneurs en composés volatils et ellagitanins extraits dans les vins rouges ont fait l'objet de plusieurs études (Chira *et al.*, 2020a; Chira & Teissedre, 2013a, 2013c). C'est également le cas pour les composés volatils du bois qui ont déjà été étudiés dans différents spiritueux (Canas *et al.*, 2007; Sarni *et al.*, 1990; Viriot *et al.*, 1993), et qui ont montré qu'une chauffe forte permettrait une plus forte extraction des composés phénoliques du bois, comme c'est par exemple le cas pour les quatre aldéhydes phénoliques vanilline, coniféraldéhyde, sinapaldéhyde et syringaldéhyde (Sindt *et al.*, 2016).

Les teneurs en ellagitanins retrouvées dans le bois après deux ans de séchage restant importantes, et au vu du manque de connaissances actuel sur l'extraction des ellagitanins du bois et leur évolution dans les eaux-de-vie de cognac, il était intéressant d'étudier le potentiel d'extraction des barriques lors du vieillissement et l'impact de la chauffe sur l'extraction des ellagitanins du bois par les eaux-de-vie. Afin de mieux comprendre ce processus de rotation et son impact sur la composition des eaux-de-vie, les résultats de cette partie ont été basés sur un plan expérimental mis en place au début de la thèse et comportant deux modalités, qui sont, l'étude de l'extraction des ellagitanins par l'eau-de-vie en rotations courtes (3 à 6 mois), puis en rotations longues (8 à 12 mois). Ces deux modalités ont été mises en place afin d'étudier le potentiel d'extraction des barriques au cours des rotations, et de voir au bout de combien de temps le fût s'épuise, et ne libère plus d'ellagitanins. Cette partie de la thèse avait deux objectifs : voir d'un point de vue chimique l'impact de la chauffe de la barrique et des rotations des eaux-de-vie sur l'extractibilité des ellagitanins du bois, et voir si la durée de la rotation impactait le potentiel d'extraction du fût d'un point de vue pratique.

2.2. Plan expérimental

Pour l'étude des deux modalités (rotations courtes et rotations longues), 64 barriques de 400 L ont été fabriquées par la Tonnellerie de Jarnac à partir de merrains provenant d'Indre et de Dordogne. 32 barriques représentent une modalité. Elles ont été fabriquées selon huit types de chauffe, et quatre répliqués de fûts par chauffe ont été réalisés (Figure 25).

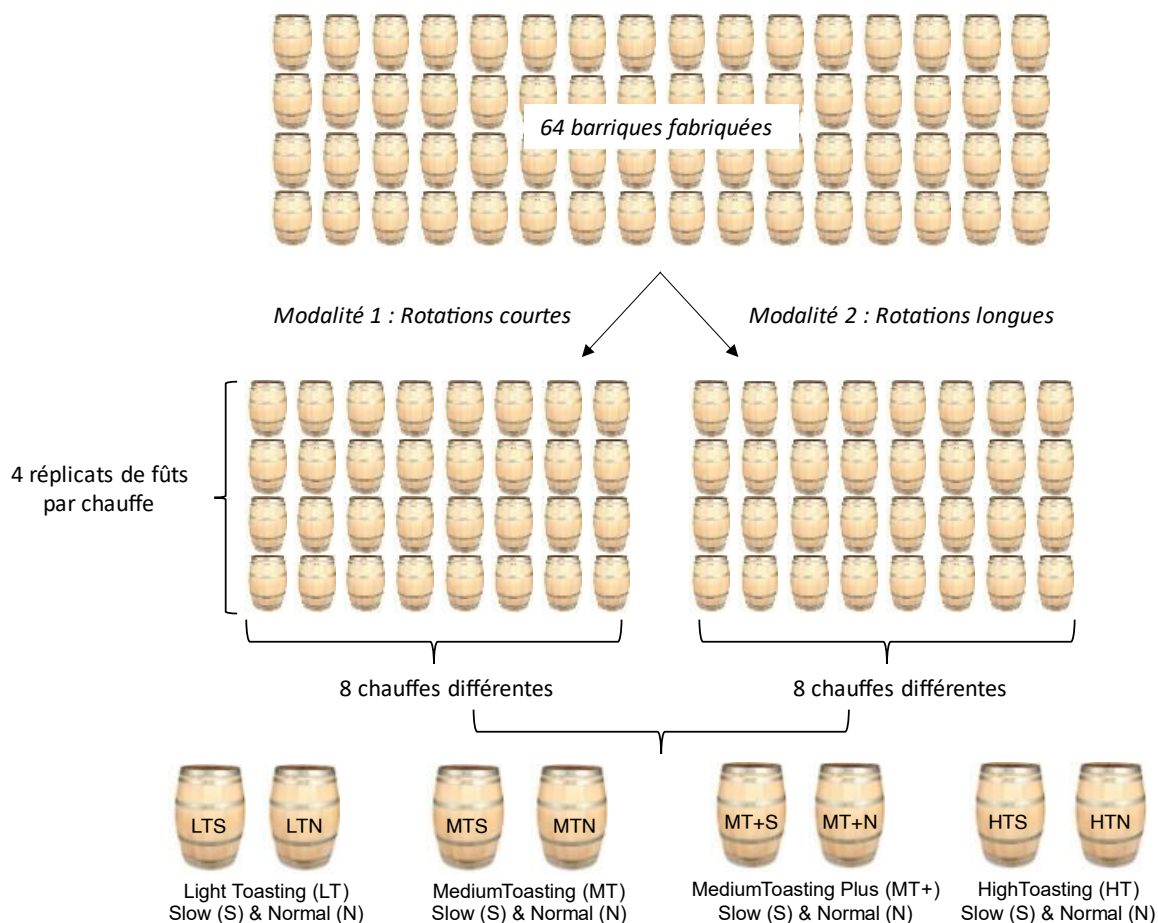


Figure 25. Schéma du plan expérimental concernant l'étude du potentiel d'extraction des barriques lors du vieillissement avec rotations.

Les huit chauffes utilisées représentent quatre profils de température et deux durées différentes pour chaque chauffe. Plus précisément, la température de chauffe est la température de surface de la coque, mesurée à mi-hauteur de la barrique à l'aide d'un thermomètre infrarouge, et reportée sur un écran pour le tonnelier en charge de la chauffe. Les huit types de chauffes sont donc deux chauffes faibles LTN et LTS, deux chauffes moyennes MTN et MTS, deux chauffes moyennes *plus* MT+N et MT+S, ainsi que deux chauffes fortes HTN et HTS. La différence entre les chauffes est caractérisée grâce à la somme des températures mesurées en fonction du temps sur toute la durée de la chauffe (c'est-à-dire 1 valeur par minute) (Tableau 1). Les trois types de chauffe (légère, moyenne et forte) sont bien caractérisées par des sommes de

températures différentes. Cependant il y a peu d'écarts de somme des températures entre les modalités « normal » et « slow ». Une chauffe de durée « slow » possède toutefois une durée totale de la chauffe supérieure à une chauffe de durée « normal ».

Tableau 1. Description des types de chauffes étudiés

Chauffe	Notation	Somme des °C.min *
Light toasting normal	LTN	4031
Light toasting slow	LTS	4117
Medium toasting normal	MTN	4514
Medium toasting slow	MTS	4872
Medium toasting plus normal	MT+N	4681
Medium toasting plus slow	MT+S	4928
High toasting normal	HTN	6582
High toasting slow	HTS	7221

*somme des températures mesurées en fonction du temps sur toute la durée de la chauffe

Chez Courvoisier, les rotations sont courtes au départ et de plus en plus longues pour les rotations suivantes. Une eau-de-vie blanche n'ayant jamais vu de bois est tout d'abord placée dans des fûts de premières rotations les plus riches en composés du bois, pour quelques mois. Puis cette eau-de-vie sera ensuite transférée vers d'autres fûts et une nouvelle eau-de-vie blanche sera à nouveau placée dans les fûts de départ. Toutes les eaux-de-vie placées en barrique sont au préalable réduites en alcool afin d'être à une valeur fixe de 63 % (v/v).

La modalité 1 concernait les rotations courtes d'eaux-de-vie dans les fûts. Pour cela, de l'eau-de-vie blanche de Grande Champagne (GC) 2018 a été placée dans les 32 barriques neuves et vieillie pendant 3 mois dans ces fûts. C'était la première rotation. Les fûts ont ensuite été vidés et de l'eau-de-vie blanche de Fin Bois (FB) 2018 a été placée dans les barriques pendant 4 mois pour faire la deuxième rotation. La troisième rotation a duré 6 mois avec une nouvelle eau-de-vie blanche de GC 2019 à l'intérieur des barriques. Enfin, une quatrième rotation a été réalisée, avec de l'eau-de-vie blanche de GC 2020 mise à vieillir dans les fûts pendant 6 mois (Figure 26). Des prélèvements d'eaux-de-vie dans chaque barrique ont été réalisés tous les mois de chaque rotation afin d'être analysés au laboratoire.

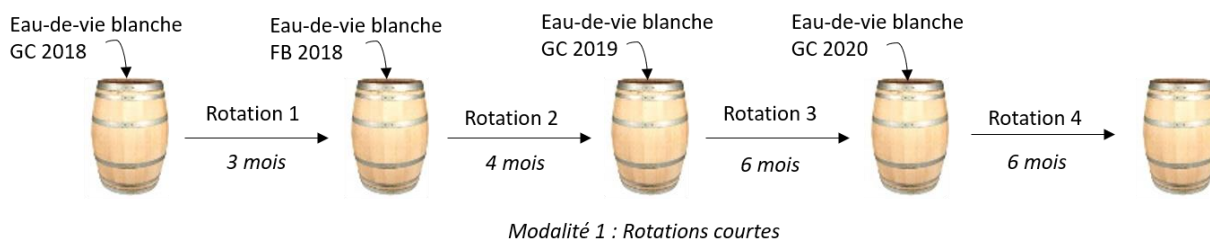


Figure 26. Schéma du plan expérimental de la modalité 1 : rotations courtes

La modalité 2 concernait les rotations longues d'eaux-de-vie dans les fûts. Deux rotations ont été réalisées. Pour la première qui a duré 8 mois, de l'eau-de-vie blanche de GC 2018 a été placée dans les fûts neufs. La deuxième rotation a duré 12 mois durant lesquels les fûts contenaient de la GC 2019 (Figure 27).

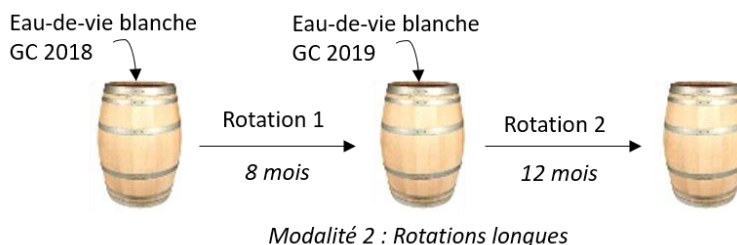


Figure 27. Schéma du plan expérimental de la modalité 2 : rotations longues

Pour cette modalité qui concernait un plus long vieillissement d'eau-de-vie, des prélèvements plus espacés ont été réalisés. Un prélèvement d'eau-de-vie dans chaque barrique a été réalisé à 1 mois, 3 mois et 6 mois pour la première rotation ; et à 1 mois, 3 mois, 6 mois, 9 mois et 12 mois pour la deuxième.

2.3. Préparation des échantillons d'eaux-de-vie pour analyse

Les quatre répliqués de barrique ont permis d'avoir quatre répliqués biologiques pour un échantillon d'eau-de-vie afin de limiter au maximum les différences dues à la variabilité interindividuelle retrouvée dans le bois de chêne et d'obtenir ainsi des résultats plus robustes. Pour chaque échantillon d'eau-de-vie, 100 mL ont été évaporés à sec et repris dans 500 μ L d'eau acidifiée à 0,1 % d'acide formique pour ensuite être analysés à l'HPLC-QQQ, comme précédemment décrit dans le chapitre 1, tout comme le gradient et les conditions expérimentales de l'HPLC-QQQ. Les concentrations en ellagitanins du bois ont été exprimées en mg/L en équivalent de vescalagine. Une courbe d'étalonnage à partir de vescalagine commerciale provenant de chez Sigma-Aldrich a été réalisée pour la quantification des ellagitanins.

Les traitements statistiques des résultats ont à nouveau été effectués avec le logiciel Rstudio. La normalité et l'homoscédasticité des résidus ont été évaluées pour tous les paramètres en utilisant respectivement le test de Shapiro-Wilk et le test de Levene. Lorsque les conditions permettaient d'utiliser des tests paramétriques, l'ANOVA était utilisée, avec le test de Tukey pour évaluer le degré des différences significatives ($p\text{-value} \leq 0,05$). Si les conditions exigeaient l'utilisation de tests non-paramétriques, le test de Kruskal-Wallis était réalisé, ainsi que celui de Pairwise-Wilcox comme test post-hoc.

2.4. Influence de l'eau-de-vie blanche de départ sur l'extraction des ellagitanins du bois

Etant donné que différentes eaux-de-vie blanches ont été placées dans les barriques au cours des rotations et plus particulièrement des eaux-de-vie de deux terroirs différents (Grande Champagne et Fin Bois), ainsi que de différents millésimes (2018, 2019 et 2020), un test a été réalisée au laboratoire afin de s'assurer que l'eau-de-vie blanche de départ n'impactait pas l'extraction des ellagitanins.

Pour cela, 1 g/L de sciure de merrains a été placé à macérer dans chacune des eaux-de-vie blanches FB 2018 (notée FB18), GC 2018 (notée GC18), GC 2019 (notée GC19) et GC 2020 (notée GC20) en triplicata et sous agitation. Au bout de 21 jours, le maximum d'extraction des ellagitanins du bois par les eaux-de-vie a été obtenu. 1 mL de chaque surnageant a été évaporé à sec, puis repris dans 1 mL d'eau milliQ acidifiée à 0,1 % d'acide formique, et filtré avec un filtre 0,45 μm . Les échantillons ont ensuite été dilués 40 fois avec de l'eau milliQ avant d'être injectés en HPLC-Triple quadripôle.

Les résultats obtenus montrent que l'eau-de-vie de départ n'influence pas l'extraction des ellagitanins du bois (Figure 28). Aucune différence significative n'a été retrouvée sur les teneurs de chacun des ellagitanins extraits par les quatre eaux-de-vie blanches différentes.

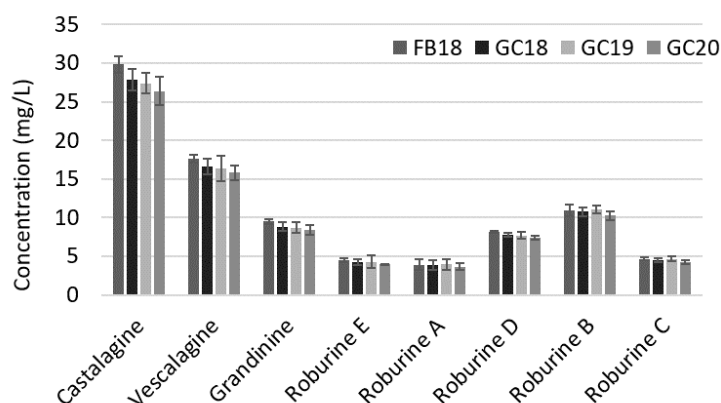


Figure 28. Concentration en ellagitanins dans quatre eaux-de-vie blanches en contact avec du bois 21 jours.

Le potentiel d'extraction des barriques au cours des rotations a donc pu être étudié à partir des modalités précédemment décrites.

2.5. Potentiel d'extraction des barriques au cours des rotations en fonction de la chauffe

Afin d'étudier le potentiel d'extraction des barriques, l'extraction cumulée des ellagitanins au cours des rotations en fonction de la chauffe a été calculée sur les 4 rotations courtes pour la modalité 1, et sur les deux rotations longues pour la modalité 2. Pour se faire, le dosage des huit ellagitanins C-glucosidiques a été fait sur les eaux-de-vie à chaque temps de prélèvement. Pour obtenir l'extraction cumulée, la concentration de chaque ellagitanin mesurée à chaque temps de prélèvement a été additionnée avec la concentration obtenue à la fin de la rotation précédente. Par exemple, au prélèvement 2 mois de la rotation 2, l'extraction cumulée a été calculée en additionnant la concentration mesurée à ce temps, avec la concentration en ellagitanins après les 3 mois de rotation 1 (C_{ROT1}). De la même manière, au temps 4 mois de rotation 3, l'extraction cumulée était calculée en additionnant la concentration obtenue à ce temps, avec la concentration en ellagitanins après les 4 mois de rotation 2 (C_{ROT2}) (Figure 29).

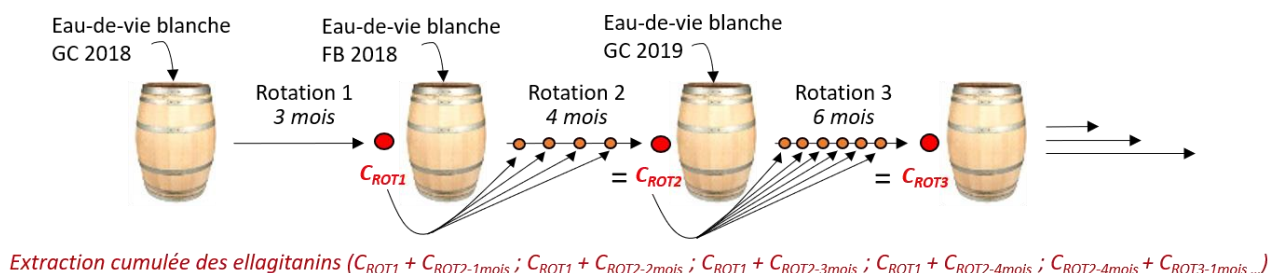


Figure 29. Schéma explicatif du calcul de l'extraction cumulée des ellagitanins lors des rotations avec C_{ROT1} , C_{ROT2} et C_{ROT3} qui sont les concentrations en ellagitanins à la fin des rotations 1, 2 et 3 respectivement, pour lesquelles $C_{ROT2} = C_{ROT1} + C_{ROT2-4mois}$ et $C_{ROT3} = C_{ROT2} + C_{ROT3-6mois}$.

Les résultats sont présentés pour quatre chauffes de barriques, à savoir une chauffe faible LTS, deux chauffes moyennes MTN et MTS, et une chauffe forte HTN (Figure 30). Les quatre autres chauffes n'ont pas pu être traitées pour la rotation 2 en raison d'un souci expérimental dans les chais, décalant ainsi les prélèvements sur ces eaux-de-vie-là durant le confinement lié à la covid-19. Des données manquantes étant alors retrouvées pour une des rotations, il n'était pas possible de calculer de la même manière l'extraction cumulée des ellagitanins. La somme des quatre rotations courtes de la modalité 1 représente 19 mois de contact entre le bois et les eaux-de-vie, et la somme des deux rotations longues indique 20 mois de contact pour la modalité 2.

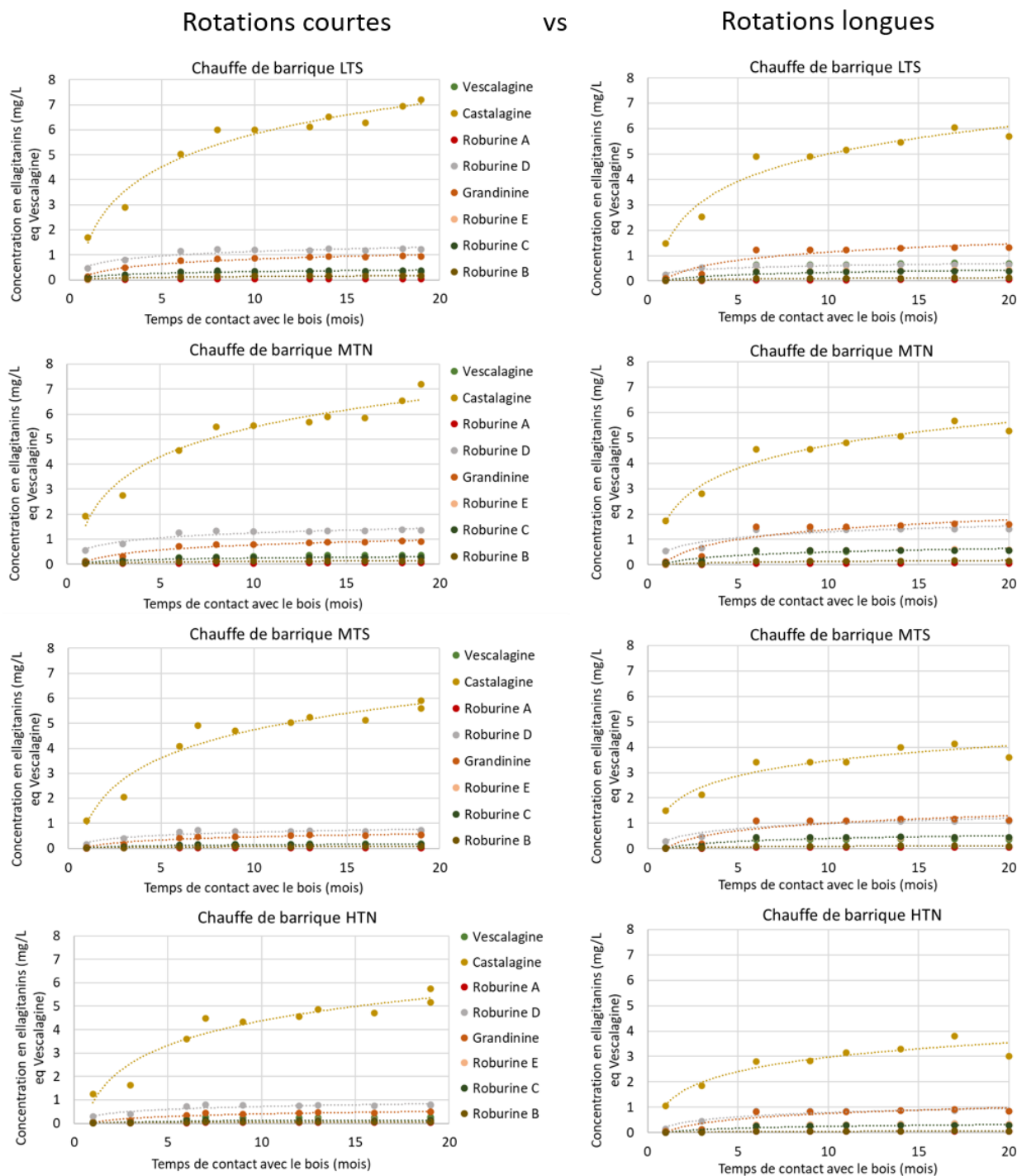


Figure 30. Comparaison de l'extraction cumulée des ellagitanins au cours des rotations courtes et des rotations longues pour quatre chauffes de barriques.

Il apparaît que pour toutes les chauffes et quel que soit la modalité de rotation, l'extraction des composés se fait rapidement lors des trois à six premiers mois puis devient plus progressive. Toutefois, un plateau est atteint à 8 mois lors de la troisième rotation courte, contre 6 mois lors de la fin de la première rotation longue. En outre, la castalagine est l'ellagitanin majoritaire, suivi des roburine D, grandinine et vescalagine. Toutefois, il apparaît que le type de rotation

influence l'intensité de l'extraction de certains composés, car quel que soit le type de chauffe de la barrique, la castalagine est extraite en quantités plus importantes lors des rotations courtes que des rotations longues, contrairement à la grandinine et à la vescalagine qui sont extraites en quantités plus importantes en rotations longues (Figure 30). Il apparaît donc finalement que quel que soit le type de rotation, les teneurs de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques extraites du bois soient identiques lors d'un long temps de contact de l'eau-de-vie avec le bois, mais que les proportions de certains des ellagitanins diffèrent.

De plus, la chauffe de la barrique influence le potentiel d'extraction des ellagitanins du bois car comme on peut le voir sur la Figure 30, les barriques avec les chaufes HTN et MTS présentent des teneurs en ellagitanins plus faibles que les barriques avec les chaufes LTS et MTN. Ce résultat est confirmé par l'étude des quatre autres chaufes de barriques en rotation longue qui montrent également que la barrique avec une chauffe forte HTS engendre des concentrations en ellagitanins plus faibles qu'une barrique avec une chauffe faible LTN car la chauffe dégrade les ellagitanins du bois. Ceux-ci seront alors en plus faible concentrations dans le bois et donc moins présents dans l'eau-de-vie par la suite. Les chaufes MT+N, et MT+S (Figure 31) donnent des résultats similaires à ceux obtenus pour la chauffe moyenne MTS (Figure 30).

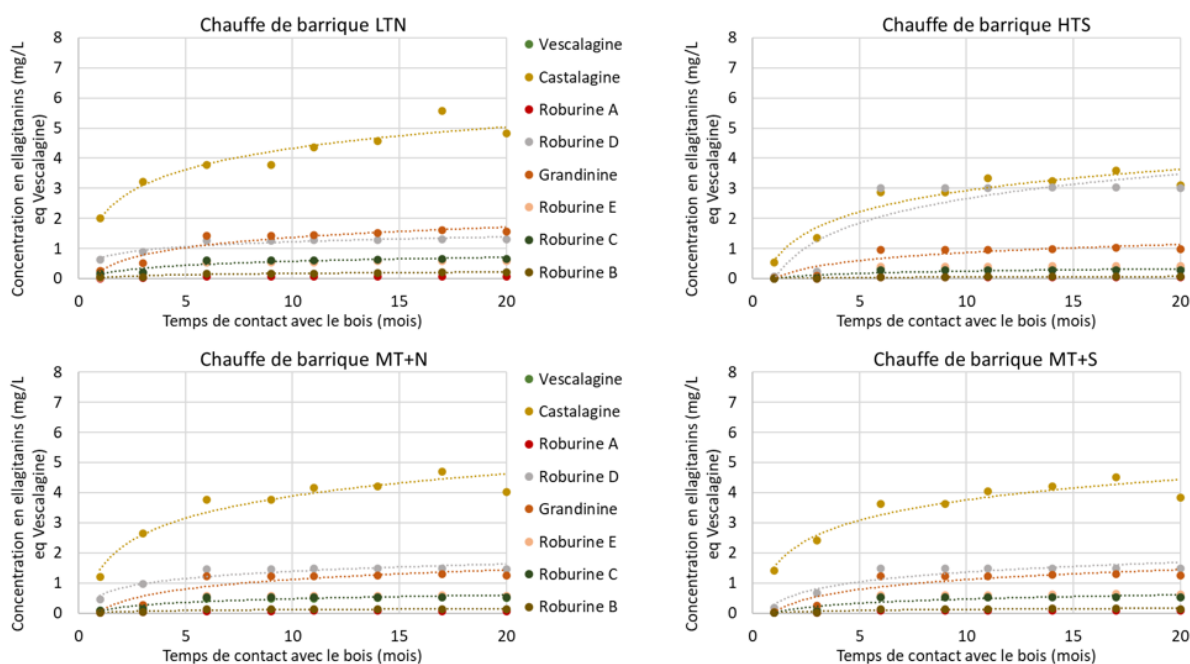


Figure 31. Extraction cumulée des ellagitanins au cours des rotations longues pour quatre chaufes de barriques.

2.6. Variabilité interindividuelle et évolution des ellagitanins en fonction de la chauffe

Comme observé précédemment, la chauffe de la barrique influence les teneurs en ellagitanins. Afin d'étudier plus en détails l'évolution des ellagitanins durant les rotations, les concentrations en ellagitanins pour un même temps de prélèvement mais sur les différentes rotations courtes ont été représentées. Plus particulièrement, nous avons comparé les teneurs à la fin de la rotation 1 à 3 mois, aux teneurs à 3 mois de la rotation 3, ainsi qu'aux teneurs à 3 mois de la rotation 4. Les teneurs de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques ainsi que celles de la castalagine ont été représentées à 3 mois pour 3 rotations courtes (Figure 32).

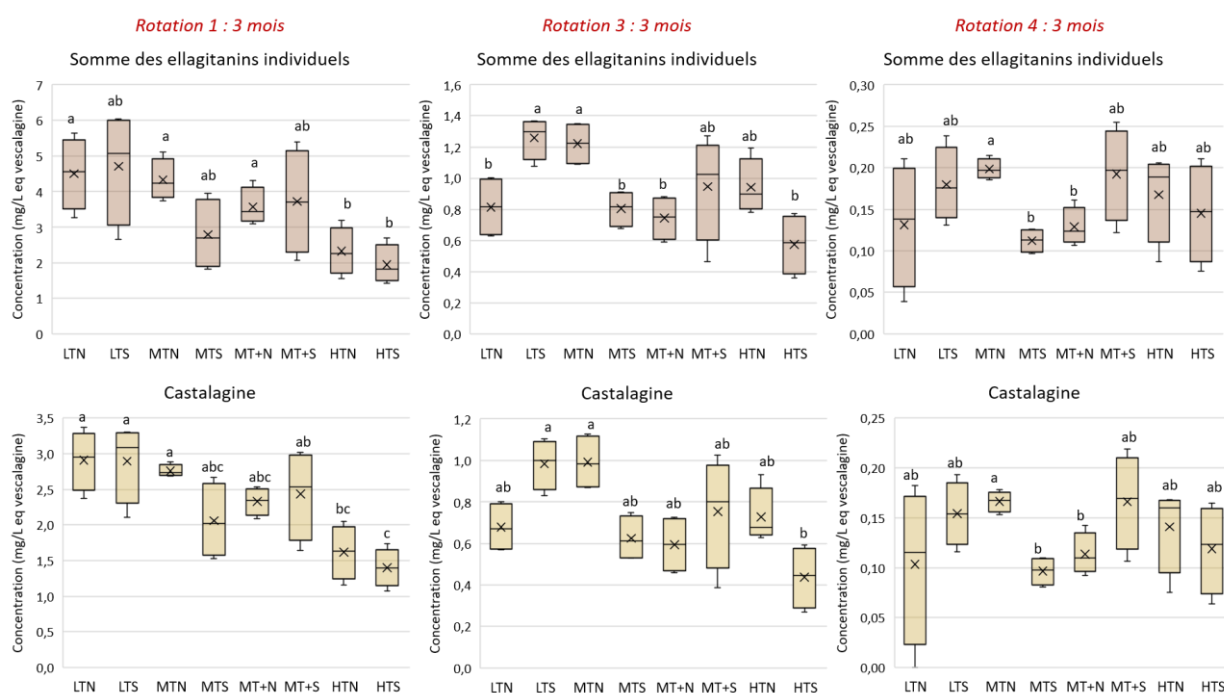


Figure 32. Concentrations de la somme des ellagitanins individuels et de la castalagine dans les eaux-de-vie à 3 mois en fonction de la chauffe de la barrique pour trois rotations.

Il apparait clairement grâce à la représentation sous forme de boîte à moustache qu'une grande variabilité est retrouvée pour les quatre répliqués de barriques lors de la première rotation à 3 mois, démontrant que la variabilité interindividuelle du bois est importante. Il était donc nécessaire d'avoir quatre répliqués biologiques de barriques pour l'étude, afin de diminuer au mieux la variabilité retrouvée. De plus, les résultats montrent également que lors de la première rotation, l'intensité de la chauffe de la barrique influence les teneurs en ellagitanins retrouvées dans les eaux-de-vie. Une chauffe de barrique faible présentera des teneurs en ellagitanins plus élevées que dans les eaux-de-vie vieilles en barriques moyennement puis fortement chauffées. La castalagine ainsi que les autres ellagitanins suivent la même tendance que la somme des huit ellagitanins. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature qui montrent que la chauffe

forte dégrade les ellagitanins du bois (Cadahía, Muñoz, *et al.*, 2001; Jordão *et al.*, 2007), et qu'il y en aura donc moins à extraire par la suite. Lorsque l'on s'intéresse aux rotations 3 et 4 au même temps de rotation (3 mois), on remarque d'une part que la variabilité pour les fûts d'une même chauffe est très faible, et d'autre part que l'effet chauffe est amoindri du fait que le fût a été épuisé par l'eau-de-vie et n'a pratiquement plus d'ellagitanins à céder. En effet, lors de la première rotation, le bois transfère jusqu'à 4,7 mg/L d'ellagitanins dont 2,9 mg/L de castalagine, alors qu'à 3 mois de rotation 3, correspondant en réalité à une barrique en contact avec de l'eau-de-vie durant 10 mois, le bois donne au maximum 1,3 mg/L d'ellagitanins dont 1,0 mg/L de castalagine. A 3 mois de rotation 4, lorsque le bois a été en contact 16 mois avec de l'eau-de-vie, la nouvelle eau-de-vie blanche dans les barriques depuis 3 mois aurait besoin de plus de temps pour puiser plus loin dans le bois et extraire d'autres composés. Seulement 0,2 mg/L d'ellagitanins sont extraits par l'eau-de-vie, dont 0,17 mg/L de castalagine. La durée des rotations a donc une importance pour l'extraction des composés. Lorsque le fût a déjà été utilisé, l'eau-de-vie aura besoin de plus de temps pour extraire les composés, et donc la durée des rotations doit bien être de plus en plus longue, car l'eau-de-vie migre dans le bois généralement jusqu'à mi-épaisseur de la douelle.

2.7. Conclusion

Cette partie a permis de montrer l'influence du processus de tonnellerie et des techniques d'élevage sur la capacité du bois de chêne à céder des ellagitanins aux eaux-de-vie mais aussi sa grande variabilité. Plusieurs réplicats biologiques sont alors nécessaires afin d'amoindrir cette variabilité du bois et d'obtenir des résultats plus robustes. Quand la barrique est neuve, l'extraction des composés se fait rapidement lors des premiers mois, avant de devenir plus lente, jusqu'à l'obtention d'un plateau. Comme à ce moment-là la partie du bois qui est en contact avec l'eau-de-vie ne permet plus l'extraction des ellagitanins, l'eau-de-vie aurait besoin d'aller plus loin dans le bois pour extraire ces composés. Quel que soit le type de rotations courtes ou longues, la somme des huit ellagitanins extraits est la même mais la proportion des différents ellagitanins diffère. Particulièrement, une rotation longue extraira moins de castalagine que des rotations courtes successives, mais plus de grandinine, roburine D et vescalagine. Il serait intéressant de compléter ces données avec l'extraction d'autres composés du bois tels que les composés volatils afin de voir si la tendance est la même, et de pouvoir choisir le type de rotation à utiliser. D'un point de vue pratique, il n'est peut-être pas nécessaire de faire des rotations courtes d'eaux-de-vie successives (ici 4) si au bout de 18 mois avec seulement deux rotations, les teneurs en extractibles du bois de chêne sont les mêmes. Après 12 mois

d'utilisation de la barrique, l'extraction des ellagitanins étant quasi nulle, le fût pourrait alors être considéré comme roux. Toutefois, cela dépend de la cinétique d'extraction des composés du bois ; celle des ellagitanins est relativement rapide mais ce n'est peut-être pas le cas pour d'autres composés tels que les aldéhydes aromatiques. Enfin, il a été démontré que la chauffe du bois a un impact sur les teneurs en ellagitanins retrouvées dans les eaux-de-vie étant donné qu'elle engendre une dégradation thermique de ces composés thermosensibles. Afin de mieux comprendre le comportement des ellagitanins dans cette matrice lors du vieillissement ainsi que leur évolution, une troisième modalité a été mise en place. Il s'agit de regarder l'évolution des ellagitanins dans une même eau-de-vie vieillie en barrique, sans rotation, mais toujours avec des barriques représentant les huit chauffes différentes. Cette nouvelle modalité sera décrite dans la partie suivante.

3. EVOLUTION DES ELLAGITANINS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC LORS DU VIEILLISSEMENT : IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE

3.1. Introduction

Notre étude a permis jusqu'à présent de montrer que le comportement des ellagitanins C-glucosidiques ainsi que leurs teneurs dans le bois étaient impactées par le processus de séchage des merrains en tonnellerie. Il a également été montré que l'extraction de ces composés était influencée par la gestion du vieillissement des eaux-de-vie dans les chais, notamment par l'utilisation d'un système de rotation des eaux-de-vie dans les barriques lors du vieillissement de ces dernières. La chauffe de la barrique, comme il a été décrit précédemment, est un processus de tonnellerie qui joue également un rôle crucial sur l'extraction des composés et sur le potentiel qualitatif des eaux-de-vie vieilles en barrique. Cette partie a donc pour objet d'étudier plus en détail le comportement des ellagitanins C-glucosidiques dans les eaux-de-vie de Cognac lors du vieillissement et l'impact de la chauffe de la barrique sur une même eau-de-vie au cours du temps.

Pour cela, une nouvelle modalité a été ajoutée à la thèse. 32 barriques de 400 L ont été fabriquées par la Tonnellerie de Jarnac à partir de merrains provenant d'Indre et de Dordogne. De la même manière que pour les modalités de la partie précédente, les barriques ont été fabriquées à huit chauffes différentes, et quatre répliqués de fûts par chauffe ont été réalisés. Cette fois, une seule et même eau-de-vie (GC 2019) a été placée dans les barriques afin de suivre l'évolution des ellagitanins au cours du vieillissement (Figure 33).

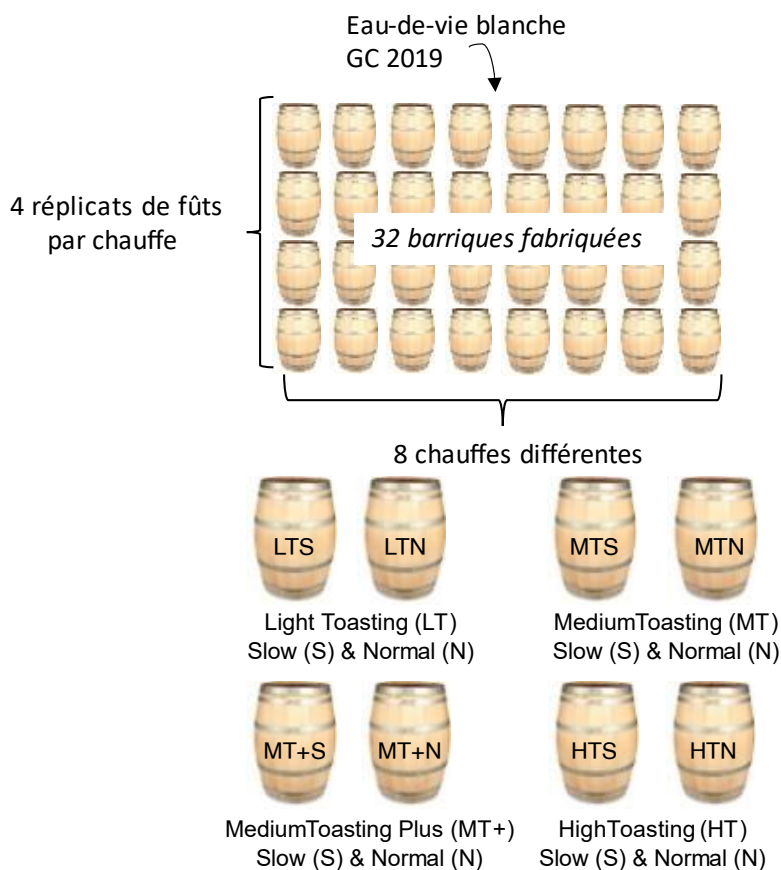


Figure 33. Schéma du plan expérimental concernant l'étude des ellagitanins dans une eau-de-vie vieillie en barriques représentant différentes chauffes.

Les résultats de cette partie ont fait l'objet d'une publication scientifique intitulée « Impact of barrel toasting on the ellagitanins composition in aged Cognac eaux-de-vie. ». Cet article est en cours de soumission dans le journal *Molecules*.

Les tests statistiques utilisés dans cette partie sont les mêmes que ceux décrits précédemment, mais un autre test, l'Analyse en Composante Principale (ACP) a également été utilisé. Il s'agit d'une représentation graphique qui permet de résumer et visualiser les informations d'un ensemble de données multivariées contenant des individus décrits par de multiples variables quantitatives inter-corrélées. Ce test permet de synthétiser l'information en seulement quelques variables appelées composantes principales. En d'autres termes, l'ACP est un outil qui permet une représentation graphique en deux dimensions avec une perte minimale d'information. L'objectif de l'ACP est de visualiser les directions (ou composantes principales) le long desquelles la variation des données est maximale.

Par souci de clarté, il est nécessaire de notifier que l'article ci-dessous décrit l'évolution des ellagitanins C-glucosidiques au cours des 18 premiers mois du vieillissement, ainsi que l'impact

de la chauffe de la barrique sur leurs teneurs. Toutefois, cette même étude a également été réalisée sur des composés d'évolution dérivés de ces ellagitanins, présents dans les spiritueux. Il s'agit de six composés d'évolution, à savoir la β -1-*O*-ethylvescalagine, la β -1-*O*-ethylvescaline, les whiskey tanins A1, A2, B1 et B2, et les brandy tanins A et B. Certains de ces composés ont déjà été décrits dans la littérature, et d'autres sont de nouvelles structures identifiées lors de ce travail de thèse, et qui seront présentées dans le Chapitre 4 (p. 154).

3.2. Article : Impact of barrel toasting on ellagitannin composition of aged Cognac eau-de-vie

Les résultats de cette partie ont fait l'objet d'un article scientifique intitulé « Impact of barrel toasting on ellagitannin composition of aged Cognac eaux-de-vie ». Cet article sera prochainement soumis dans le journal *Molecules*.

**IMPACT OF BARREL TOASTING ON ELLAGITANNIN COMPOSITION OF
AGED COGNAC EAUX-DE-VIE.**

Mathilde Gadrat^{1,2}, Catherine Emo², Joël Lavergne², Michaël Jourdes¹, Pierre-Louis Teissède¹
and Kléopatra Chira^{1,*}

1. Unité de recherche Œnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux,
Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon, France ; mathilde.gadrat@u-bordeaux.fr

2. Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France ;
mathilde.gadrat@beamsuntory.com

*kleopatra.chira@u-bordeaux.fr

Abstract

It is well established that C-glucosidic ellagitannins contribute to wine quality, and new forms of ellagitannins have been found recently in Cognac eaux-de-vie. The contribution of ellagitannin-derived spirit compounds to eaux-de-vie taste has been also demonstrated. However, there is a gap in our knowledge of the content, composition, and evolution of C-glucosidic ellagitannins in this matrix. The objective of this study was therefore to carry out an analysis of the kinetics of these compounds, and to study how they are impacted by barrel toasting. For this purpose, barrels representing eight different toasting levels were used to age the same eau-de-vie during the first 18 months. Ellagitannin quantification was carried out by HPLC-QQQ. The results showed that C-glucosidic ellagitannins were extracted during the first 3 months of aging and then decreased, whereas ellagitannin-derived spirit compound concentrations increased throughout aging. In addition, barrel toasting had such an impact on ellagitannin content that barrels were differentiated according to their levels.

Keywords : C-glucosidic ellagitannins, ellagitannin-derived spirit compounds, Cognac, eau-de-vie, barrel toasting

Introduction

Ellagitannins belong to the larger hydrolyzable tannins family and are the main extractible phenolic compounds from oak wood, representing up to 10% of wood core dry weight [1]. C-glucosidic ellagitannins have a specific structure composed of an open-chain glucose esterified in position 4 and 6 by a hexahydroxydiphenoyl unit (HHDP), and a nonahydroxyterphenoyl (NHTP) unit esterified in position 2, 3, and 5. The NHTP is also linked by a C-glycoside bond at the carbon-1 atom to the open-chain glucose core [2]. Vescalagin (**1**) and its C-1 epimer castalagin (**2**) were the first C-glucosidic ellagitannins to be isolated and characterized, more than fifty years ago, from *Castanea sativa* (chestnut) and *Quercus sesseliflora* (oak) [3–5]. These monomers account for 40-60% of oak wood ellagitannins [6]. Six other ellagitannins were later isolated from the two same heartwood species: the dimers roburin A (**5**) and D (**6**), glycosylated monomers grandinin (**3**) and roburin E (**4**), and glycosylated dimers roburin B (**7**) and C (**8**) [7,8] (Figure 1).

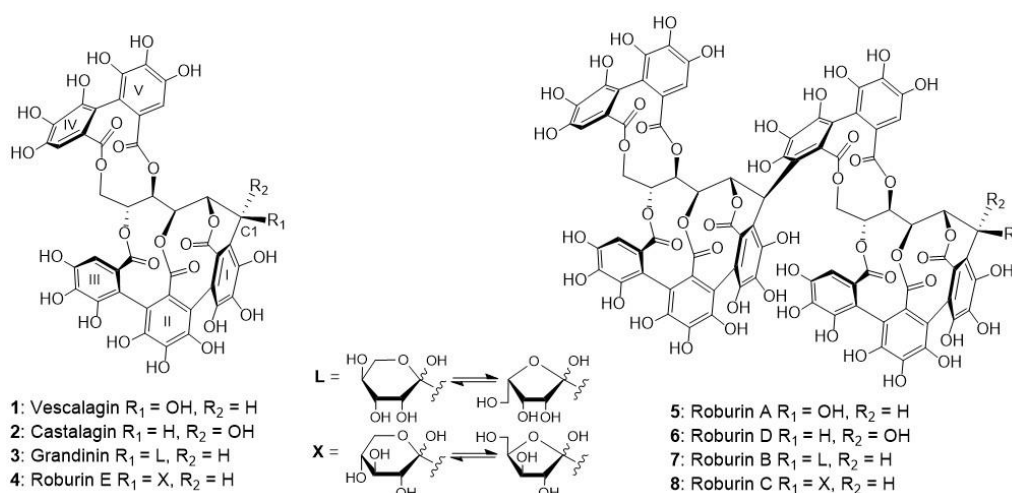


Figure 1. Structure of the eight C-glucosidic ellagitannins.

C-glucosidic ellagitannins are found in various concentrations in wood. These variations are the result of different factors, such as botanical species, geographical origin, single-tree variability, sampling position in the tree, grain, and processing of the wood in the cooperage [9–13]. All these parameters will have an impact on C-glucosidic ellagitannin concentrations, which may also influence the sensory profile of barrel-aged wines or spirits [14,15]. Toasting is a key step in the barrel manufacturing process. Oak wood toasting leads to thermodegradation of compounds, which release new volatile and non-volatile compounds [15–19]. The toasting applied to the wood varies from one cooperage to another. In general, the more the toasting increases, the greater the changes in ellagitannin content and composition. More precisely,

ellagitannin degradation depends strongly on the toasting temperature and time, since ellagitannins are thermosensitive phenolic compounds [15,20,21].

Ellagitannins have been extensively studied in wines, especially in order to characterize their organoleptic impact [22–26]. In spirits, however, total polyphenols have been studied, but very few studies have quantified individual ellagitannins [27–29]. Some individual ellagitannins, such as the monomers, have been quantified in different wine spirits such as brandy [30], and a recent study has identified the eight individual ellagitannins for the first time in Cognac eaux-de-vie [31]. Cognac is a prestigious French spirit, produced exclusively in Charente and Charente-Maritime and made from double-distilled white wines. Its specifications require the eau-de-vie to be aged in barrels for more than three years. However, to date, there is a lack of knowledge concerning the evolution of oak ellagitannins in Cognac eaux-de-vie and their organoleptic impact.

In Cognac, the oak ellagitannin monomers and dimers that have been quantified represent only a small part of the total ellagitannin concentration in spirits, suggesting that other unidentified ellagitannins may make up this total concentration [14]. In addition, previous studies on barrel-aged wines have shown that *C*-glucosidic ellagitannins were found in small amounts in these matrices, suggesting that these molecules undergo chemical transformations, via oxidation or reactions with other wine compounds, for example [32]. More particularly, β -1-O-ethylvescalagin (**9**), which results from the nucleophilic addition of ethanol to vescalagin in acidic conditions, and β -1-O-ethylvescalin (**12**) (Figure 2) which is its hydrolyzed form, have been identified and quantified in red aged wine [23,32,33]. In the case of whiskey, the oxidation of ellagitannins was responsible for the formation of new compounds called whiskey tannins B (**10-11**) and A (**14-15**), whose structures are represented Figure 2. These compounds were isolated and identified for the first time in Japanese whiskey [34], and two other isomers of these compounds were detected and quantified for the first time recently in Cognac eaux-de-vie [35]. Moreover, other ellagitannin derivatives named brandy tannin B (**12**) [35] and its hydrolyzed form brandy tannin A (**16**) [36] have been identified and quantified in Cognac eaux-de-vie for the first time.

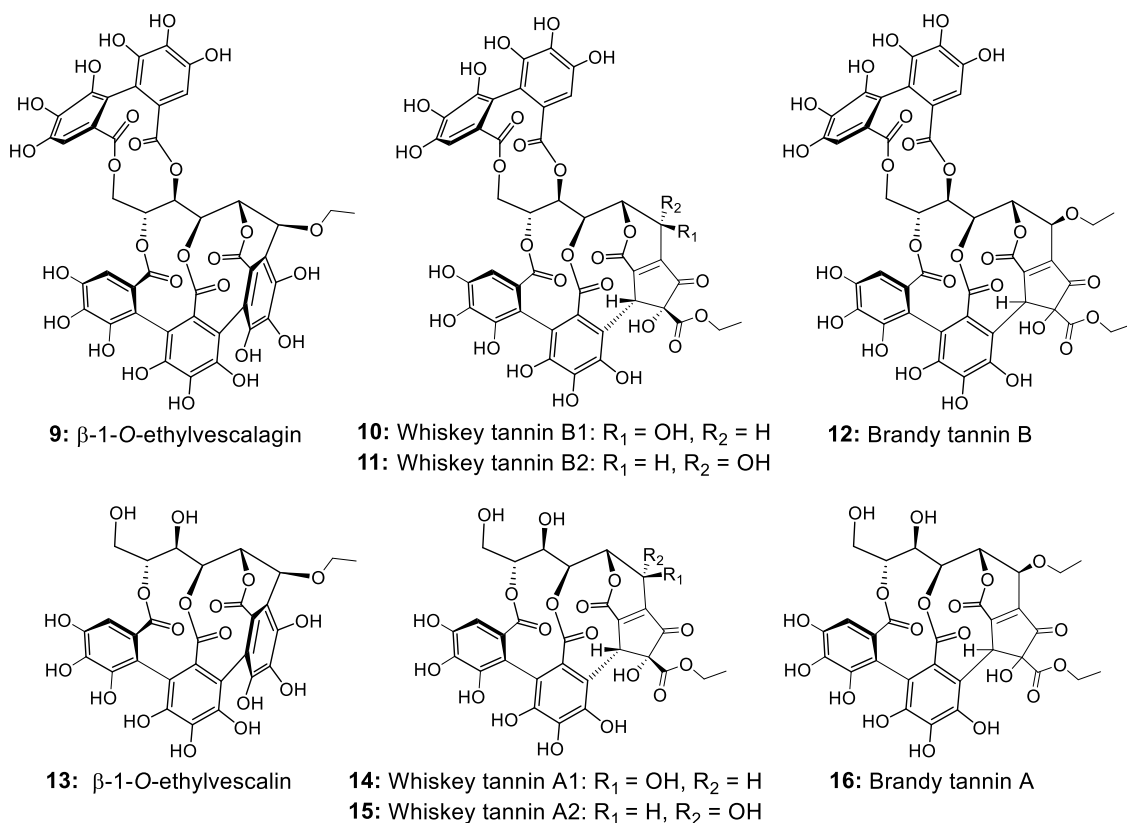


Figure 2. Structure of ellagitannin-derived spirit compounds (**9-12**) and their hydrolysis form (**13-16**) identified and quantified in Cognac eau-de-vie aged in contact with oakwood.

Given the limited knowledge of the concentrations, composition, and evolution of C-glucosidic ellagitannins in Cognac eaux-de-vie and the recent characterization of new oxidative ellagitannin compounds, the objective of this study was to monitor and compare the extraction kinetics of the eight known oak C-glucosidic ellagitannins (**1-8**) and the new ellagitannin-derived spirit compounds (**9-16**) in various eaux-de-vie aged in oak barrels with different toasting levels. The evolution kinetics of the oak C-glucosidic ellagitannins were monitored for the first 18 months of aging. The influence of toasting level on C-glucosidic ellagitannin composition during aging of the same eau-de-vie in barrels was also studied.

Results and Discussion

Evolution of C-glucosidic ellagitannins and ellagitannin-derived spirit compounds in Cognac eaux-de-vie during aging

A non-oaked eau-de-vie was placed in 32 barrels of 400 L comprising 8 different toasting levels, i.e. 4 barrel replicates per level. The evolution of C-glucosidic ellagitannins was studied during eau-de-vie aging for 18 months. The concentration of the sum of the eight oak C-glucosidic ellagitannins (**1-8**) increased rapidly to a peak at 3 months, as was previously observed in red

wine [23]. After reaching this maximum concentration, it then decreased slowly over time. Regardless of the type of barrel toasting, the trend in *C*-glucosidic ellagitannins in the eau-de-vie was the same (Figure 3A). Therefore, the content of each *C*-glucosidic ellagitannin was plotted for the different sampling times for one of the toasting levels, MT+N toasting (Figure 3B). Furthermore, during the first month of aging, only the *C*-glucosidic ellagitannin monomers castalagin and vescalagin were detected and quantified at low levels in the eau-de-vie (around 160 µg/L for castalagin and 20 µg/L for vescalagin). None of the other *C*-glucosidic ellagitannins were found. After 3 months of aging, when the eau-de-vie had extracted the maximum of the eight *C*-glucosidic ellagitannins, the content of each varied over time, but castalagin (**2**) (78% on average) was always the main *C*-glucosidic ellagitannin, followed by grandinin (**3**) (7% on average), vescalagin (**1**) (5% on average), and roburins A-E (**4-8**) (10% on average). However, the trends for the compounds in the eau-de-vie during the first 18 months of aging were not the same for all the *C*-glucosidic ellagitannins, as the content of each changed according to the contact time of the eau-de-vie with the wood. In particular, between 6 and 12 months of aging, the concentration of vescalagin (**1**) decreased more rapidly than its isomer castalagin (**2**), by 31% compared to 25% for castalagin (**2**). This decrease became more pronounced between 12 and 18 months of aging, as the loss of vescalagin (**1**) was around 59%, against only 8% for castalagin (**2**). This can be explained by the fact that vescalagin (**1**) is more reactive than its epimer, due to the position of the hydroxyl in the *C*-1 position and can react more easily with other eaux-de-vie constituents, such as ethanol, and undergo transformations during aging, as previously observed in wine [23,32]. Furthermore, grandinin (**3**) did not appear to be very reactive, as the concentration of this compound did not vary significantly between 3 and 18 months, and its isomer roburin E (**4**) only decreased by 16% between 6 and 12 months, and between 12 and 18 months, in contrast to the dimers (**5-6**) and glycosylated dimers (**7-8**) which followed the same downward trend as vescalagin (**1**). It is probably for this reason that grandinin (**3**) is present in higher concentrations than vescalagin (**1**) in eaux-de-vie, whereas the opposite is observed in oak wood. It is possible that vescalagin (**1**) reacts very quickly in this matrix, and that its extraction rate is therefore slower than its reaction rate with other compounds.

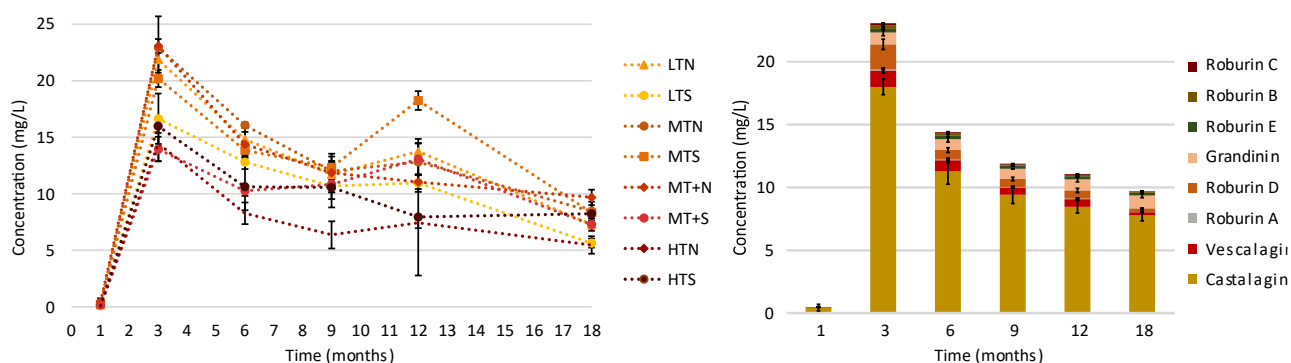


Figure 3. Sum of the C-glucosidic ellagitannin (1-8) concentrations in eau-de-vie during 18 months of aging in oak barrels manufactured with different toasting levels (A), and trend in the C-glucosidic ellagitannins (1-8) for MT+N toasting (B).

The results presented so far are in agreement with previous studies on red wine [11,23]. The maximum concentration of C-glucosidic ellagitannins was also reached at 3 months in barrel-aged red wines. Furthermore, levels of vescalagin (**1**) also varied more than castalagin (**2**), although in red wines the amount of vescalagin (**1**) was higher than that of grandinin (**3**).

Formation of the ellagitannin-derived spirit compounds (**9-14**) from vescalagin (**1**) and castalagin (**2**) was then monitored under the same conditions. The sum of the concentrations of the eight ellagitannin-derived spirit compounds (**9-14**) during 18 months of aging is represented in Figure 4A. These derivatives were detectable in eaux-de-vie after one month of aging in oak barrel.

Regardless of toasting level, the concentrations of these compounds followed the same trend, i.e. their concentrations increased continuously during the 18 months of aging, with the exception of LTN. As previously, the content of each ellagitannin-derived spirit compound (**9-16**) was plotted for the different sampling times for the eau-de-vie aged in the MT+N toasted barrel (Figure 4B). During the first 3 months of aging, the main ellagitannin-derived spirit compounds observed in the eau-de-vie were the non-HHDP-hydrolyzed ones, i.e. whiskey tannins B1 (**10**) and B2 (**11**), brandy tannin B (**12**) and β -1-O-ethylvescalagin (**9**), as their concentrations increased strongly (by between 69% and 87%) in the first 3 months, while those without HHDP moieties, such as whiskey tannins A1 (**14**) and A2 (**15**), brandy tannin A (**16**) and β -1-O-ethylvescalin (**13**) increased by between 37 and 49%. On the contrary, during the second phase of these kinetics, and more precisely between 9 and 18 months, the concentrations of whiskey tannins A1 (**14**) and A2 (**15**) and of brandy tannin A (**16**) increased more rapidly (by between 36 and 40%) than those of whiskey tannins B1 (**10**) and B2 (**11**), and those of brandy tannin B (**12**) (by between 23 and 28%). In addition, β -1-O-ethylvescalagin (**9**) and β -1-O-ethylvescalin (**13**) concentrations increased more slowly, by around 11% and 13%

respectively. However, although the total concentration of the ellagitannin-derived spirit compounds increased according to their aging time, their individual proportions followed the same trend. In particular, whiskey tannins B2 (**11**) and A2 (**15**) were the main ellagitannin-derived spirit compounds among those studied (35% and 20% on average respectively), while the other compounds represented 44% on average (accounting for 6 to 9% each).

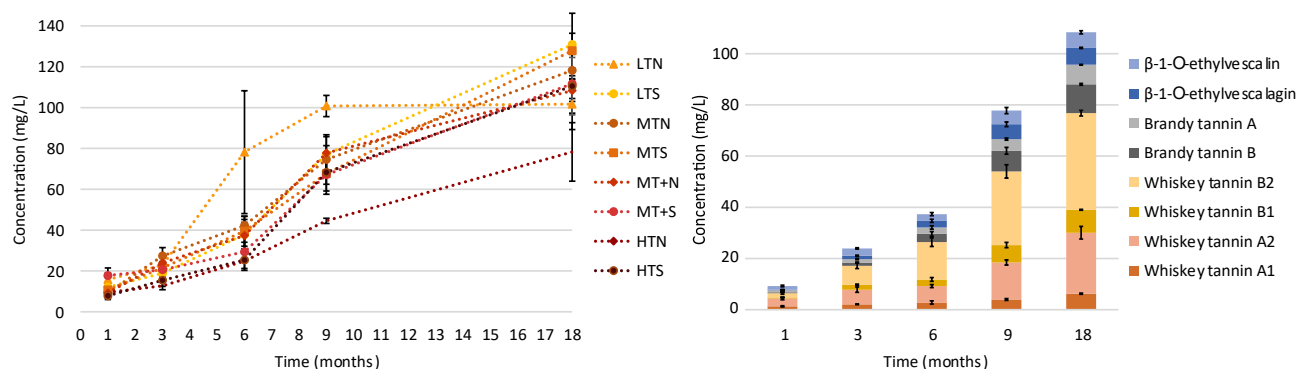


Figure 4. Sum of ellagitannin-derived spirit compound (**9-14**) concentrations in eau-de-vie during 18 months of aging in oak barrels manufactured with different toasting levels (A) and trend in these compounds in the eau-de-vie in an MT+N toasted barrel (B).

As no studies have focused on *C*-glucosidic ellagitannin trends in spirits, the levels found here for the eight known *C*-glucosidic ellagitannins (**1-8**) and the new ellagitannin-derived spirit compounds (**9-16**) constitute the first observations. Previous works investigating trends in vescalagin derivatives concerned only red wines [23,31]. β-1-*O*-ethylvescalagin (**9**) along with flavano-ellagitannins named acutissimins and epiacutissimins, were identified and quantified. It was reported that β-1-*O*-ethylvescalagin (**9**) concentration increased during the first year of aging, following the same behavior as in this study.

Another study regarding the concentration of the β-1-*O*-ethylvescalagin (**9**) in barrel-aged red wines showed that it presented a concentration of 0.85 mg/L in a Bordeaux red wine after 18 months of aging [32]. The levels of this compound ranged from 4.30 to 8.96 mg/L in the eaux-de-vie and were higher than those found in the wine for the same contact time with the oak wood and were dependent on the toasting level of the barrel. Since the eaux-de-vie has a higher alcohol content (63% v/v) than wine, the reaction between vescalagin (**1**) and ethanol may occur more quickly and easily in this matrix, even though the pH of the spirits is higher than that observed in red wine. Moreover, in a recent work on multiple commercial Cognac eaux-de-vie and multiple vintages ranging from 1986 to 2020 [35], β-1-*O*-ethylvescalagin (**9**) was not found in commercial eaux-de-vie and its mean concentration for the vintages between 1986 to 2020 was around 1 mg/L, which is still higher than in wine [23,32,37]. The differences found between

the previous study [35] and this one may be due to oak wood variability. The initial oak wood vescalagin (**1**) level is influenced notably by the type and length of both seasoning and toasting steps during the barrel manufacturing process, as well as by the eau-de-vie aging process used in the cellars. In practice, the eaux-de-vie are often transferred to used barrels after few months of aging, resulting in lower ellagitannin extraction by the eaux-de-vie, depending on the age and duration of use of the barrels.

Concerning whiskey tannins, the levels of the B1 (**10**) and B2 (**11**) isomers of these compounds found in this study were always higher than those of the A1 (**14**) and A2 (**15**) isomers. However, in the eaux-de-vie study with multiple aged vintages, whiskey tannins B1 (**10**) and B2 (**11**) were in smaller quantities than their hydrolyzed forms [35]. Although there is hydrolysis during aging and whiskey tannins B1 (**10**) and B2 (**11**) can be hydrolyzed to form whiskey tannins A1 (**14**) and A2 (**15**), the kinetics of this reaction may be slower than that of the formation of whiskey tannins B1 (**10**) and B2 (**11**) from the oak ellagitannin, which may explain their higher values found in this work. Moreover, during long aging, there is no more castalagin (**2**) or vescalagin (**1**) to be extracted from the wood, and therefore the B1 (**10**) and B2 (**11**) whiskey tannins can no longer be formed. Two other compounds resulting from the transformation of vescalagin (**1**) have been identified and characterized recently in Cognac eaux-de-vie [35,38]. Brandy tannins A (**16**) and B (**12**) are formed from vescalagin derivative β -1-*O*-ethylvescalagin (**9**) after an oxidation reaction followed by a second addition of ethanol. Brandy tannin A (**16**) is present in concentrations only slightly lower than brandy tannin B (**12**), as it can be formed by brandy tannin B hydrolysis (**12**) and also by β -1-*O*-ethylvescalin (**13**) oxidation following ethanol addition. The concentrations of both brandy tannins **12** and **16** were always higher than those of β -1-*O*-ethylvescalagin (**9**) and β -1-*O*-ethylvescalin (**13**). This could be explained by the fact that evolutionary reactions occur rapidly in an alcohol-rich environment. In addition, brandy tannins **12** and **16** are present at concentrations around 10 mg/L after 18 months of aging. These results suggest that they may influence Cognac organoleptic quality and taste, since it has previously been noticed that these compounds alone have an impact on eaux-de-vie taste at 2 mg/L for brandy tannin A (**16**) and at 5 mg/L for brandy tannin B (**12**) [35,38].

Impact of the barrel toasting level on concentrations of the C-glucosidic ellagitannins and ellagitannin-derived spirit compounds during oak wood aging

The impact of barrel toasting level on C-glucosidic ellagitannin content and composition was also investigated. Barrels with eight different toasting levels were used. Firstly, the C-glucosidic ellagitannin concentrations were represented for each toasting level at 3 months of aging, corresponding to the time when eau-de-vie extraction reaches its maximum amount of C-glucosidic ellagitannins, as mentioned above (Figure 5). The toasting levels studied were four different toasting temperatures (light, medium, medium + and high) with two different durations (slow and normal). The ANOVA of the temperature-duration interaction was performed for each compound studied. If the p -value of the interaction was $p \leq 0.05$, then both factors had to be treated together and therefore toasting was considered a single parameter. As the interaction was always significant, the impact of all eight toasting level was studied for each ellagitannin. The results showed that all eight C-glucosidic ellagitannins were impacted by the toasting level. In general, high toasting levels (HTN and HTS) resulted in lower ellagitannin contents, as the oak wood ellagitannins are degraded by heat [15,39]. However, there was no clear differentiation between the eight toasting levels at 3 months of aging. The confidence intervals represented on the histograms corresponding to a percentage error of 5% were very high, demonstrating the need for biological replicates, as the inter-individual variability of the wood is substantial and may in some cases override the factors being studied.

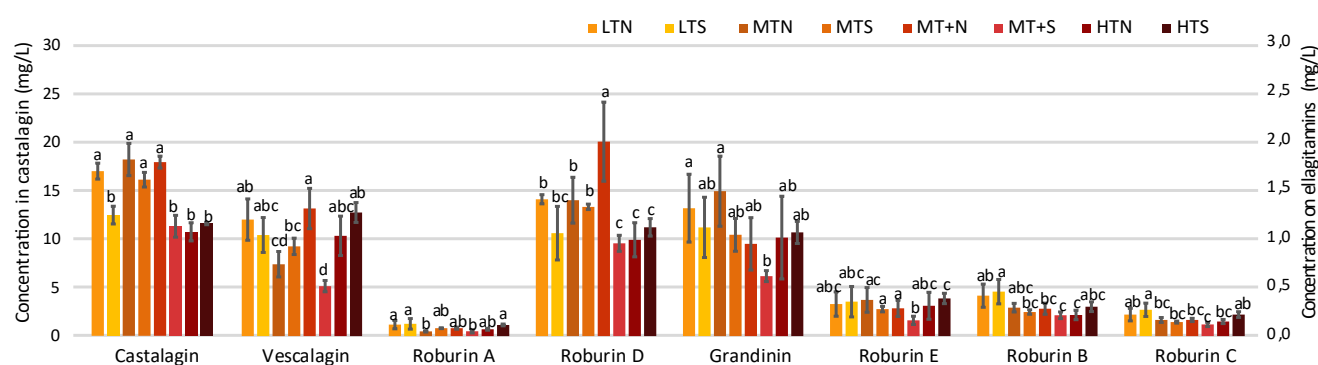


Figure 5. Impact of barrel toasting on concentrations of the C-glucosidic ellagitannins (1-8) in eau-de-vie at 3 months of aging.

Similarly, the impact of toasting level on concentrations of the ellagitannin-derived spirit compounds was studied, but at 18 months of aging, when their concentrations were the highest. The individual concentrations of the eight ellagitannin-derived spirit compounds were plotted for each toasting level at this contact time (Figure 6). These results show that barrel toasting level also had an impact on content of these compounds, as they were formed from the oak C-

glucosidic ellagitannins which are sensitive to heat. Toasting level therefore influenced their concentrations indirectly by having previously caused differences in the extraction of ellagitannins from the wood.

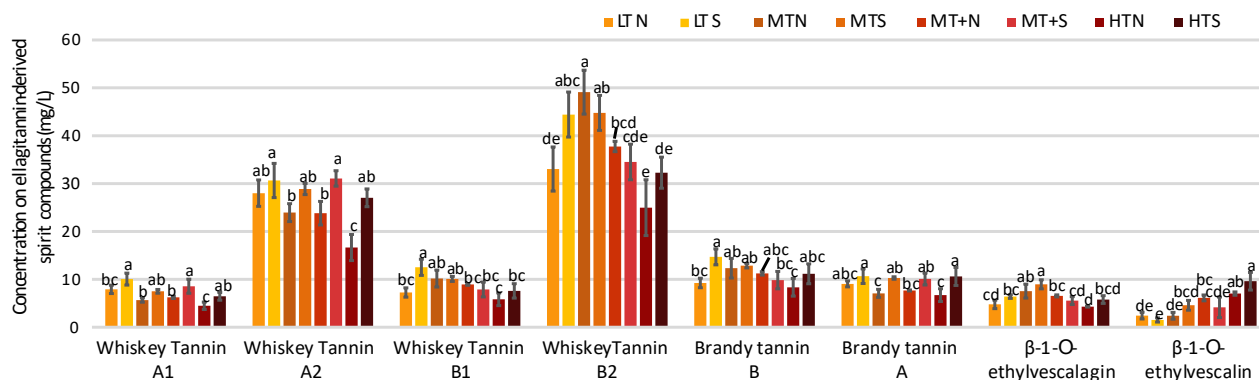


Figure 6. Impact of barrel toasting on concentrations of the ellagitannin-derived spirit compounds (9-16) in eau-de-vie at 18 months of ageing.

Longer aging seems to have accentuated the differences in C-glucosidic ellagitannin concentrations according to toasting level, because although the C-glucosidic ellagitannins were transformed over time, levels of the ellagitannin-derived spirit compounds during aging were strongly dependent on toasting level. The differences observed between the toasting levels were more pronounced after 18 months, and it seems that toasting length has a strong impact on levels of these compounds. Furthermore, a high toasting temperature favored formation of β -1-O-ethylvescalin (13), as this was the only ellagitannin derivative whose content increased significantly with toasting.

For a more overall view of toasting level impact on C-glucosidic ellagitannin behavior, a principal component analysis (PCA) was carried out at 18-month contact time, taking into account all the ellagitannins found to date in Cognac eaux-de-vie. The distribution map of the individuals according to their toasting level was plotted (Figure 7A), with the correlation circle of the associated variables (Figure 7B). More precisely, the PCA was on two dimensions, explaining 65.3% of the variance. Dimension 1 (35.5%) was only explained by the eight oak C-glucosidic ellagitannins (1-8) and dimension 2 (29.8%) was represented by the ellagitannin-derived spirit compounds (9-16).

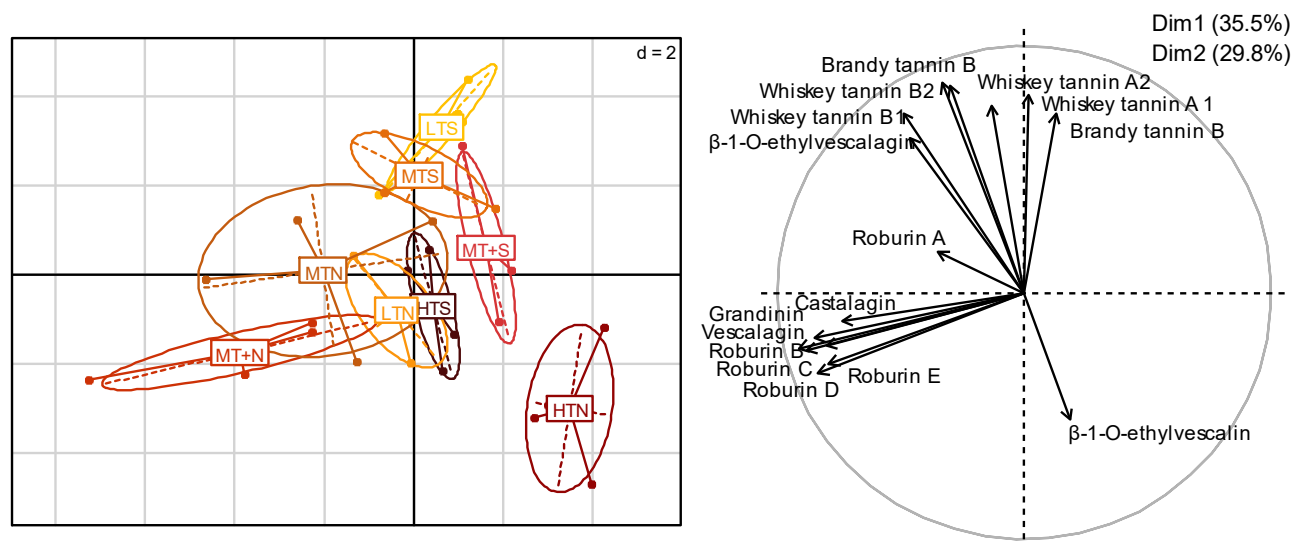


Figure 7. Principal component analysis (PCA) on two dimensions after 18 months of aging representing A) the distribution map of the individuals according to toasting level and B) the correlation circle of the associated variables.

Barrel toasting level had a significant impact on ellagitannin levels, as clear differences were observed between toasting levels. As observed previously, PCA clearly showed that β -1-*O*-ethylvescalin (**13**) levels were higher for the HTN high toast, in contrast to the other compounds. The MTN and MTS medium toasts were the least distinguishable from the others in terms of ellagitannin content extracted by eau-de-vie. However, the LTS and MTS samples were the richest in whiskey tannins and in brandy tannins.

Materials and Methods

Chemicals

Ultrapure water (Milli-Q purification system, Millipore, France) was used. Methanol, water and formic acid used for chromatographic separation were LC-MS grade and purchased from Agilent Chemical (France). Oak *C*-glucosidic ellagitannins such as vescalagin (**1**), castalagin (**2**), grandinin (**3**) and roburin A-E (**4-8**) were extracted from *Q. robur* heartwood and purified (>95% pure), as previously described [1]. These standards were kindly provided by Pr. S. Quideau. Whiskey tannin B1 (**10**), B2 (**11**) and brandy tannin B (**12**) were obtained as described previously [35].

Cognac eaux-de-vie and sample preparation

Thirty-two 400 L oak wood barrels were manufactured with different toasting levels. Eight different toasting levels were studied, and four barrel replicates were produced and used for

each level. A young, unwooded eau-de-vie from double-distilled *Grande Champagne terroir* with an alcohol content of 63% (v/v) was placed in these 32 barrels. Changes in the eau-de-vie were monitored during the first 18 months of aging. The eight toasting level studied consisted of four toasting temperatures (light, medium, medium plus and high) and two toasting durations (normal and slow) for each temperature. The difference between toasting levels was characterized by integrating the temperatures measured as a function of time over the duration of toasting. The description of the different toasting levels is in Table 1. Eau-de-vie were sampled at 1 month (T1), 3 months (T2), 6 months (T3), 9 months (T4), 12 months (T5) and 18 months (T6) of aging.

Table 1. Description of the types of barrel toasting levels.

Toast	Notation	Sum °C.min
Light toast normal	LTN	3560
Light toast slow	LTS	5036
Medium toast normal	MTN	4566
Medium toast slow	MTS	5134
Medium toast plus normal	MT+N	5088
Medium toast plus slow	MT+S	6015
High toast normal	HTN	6892
High toast slow	HTS	7320

The procedure for the preparation of eaux-de-vie samples prior to HPLC-UV-MS analysis was adapted from the procedure described previously [31]. Each eau-de-vie sample (100 mL) was evaporated under vacuum, and the dried residue was dissolved in 500 μ L of milli-Q water with 0.1% of formic acid and filtered through 0.45 μ m filters prior to HPLC-UV-MS analysis, in order to quantify the oak C-glucosidic ellagitannins in Cognac eaux-de-vie. A second method for the preparation of eaux-de-vie samples was used for ellagitannin-derived spirit compound quantification. As these compounds are less soluble in water, the eaux-de-vie samples were injected directly into the HPLC-UV-MS after being diluted with milli-Q water by a factor of 5 and filtered through 0.45 μ m filters.

HPLC-UV-QQQ analysis

For the quantification of *C*-glucosidic ellagitannins in Cognac eaux-de-vie, the method had been developed and validated beforehand, as described previously [31]. The HPLC-UV system was an Agilent 1200 Infinity series (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). For ellagitannin quantification, a Kinetex column (150 × 3 mm, 2.6 μm particle size, Phenomenex, Le Pecq Cedex, France) was used with acidified water at 0.1% formic acid (Eluent A) and acidified methanol at 0.1% formic acid (Eluent B) as mobile phases. The gradient elution of solvent B was as follows: 3% from 0 to 2 min; 3 to 3.5% from 2 to 6 min, 3.5% from 6 to 7.5 min, 3.5 to 4% from 7.5 to 9 min, 4 to 4.5% from 9 to 11 min, 4.5 to 5% from 11 to 13 min, 5 to 10% from 13 to 16 min, 10 to 15% from 16 to 19 min, 15 to 20% from 19 to 22 min, 20 to 30% from 22 to 38 min, 30 to 40% from 28 to 33 min, 40 to 99% from 33 to 35 min, 99% from 35 to 39 min, and then the HPLC column was equilibrated for 4 min using the initial conditions before the next injection. A flow rate of 400 μL/min was applied with a detection at 280 nm. The HPLC-UV system was coupled with a 6460 triple-quadrupole mass spectrometer (QQQ) equipped with a heated electrospray ionization probe (both from Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Electrospray ionization and mass detection were performed in negative mode with the following parameters: gas temperature and flow were 350°C and 5 L/min, respectively; sheath gas temperature and flow were 250°C and 10 L/min, respectively; capillary voltage was 4500 V. For ellagitannins quantification, acquisition was performed in Single Ion Monitoring (SIM) mode, with a fragmentor value at 135 V and a cell accelerator voltage at 8 V. MassHunter qualitative analysis software was used for the acquisition process, and MassHunter quantitative analysis was used for data treatment (both from Agilent Technologies, Waldbronn, Germany).

Calibration curves

Quantification of the eight *C*-glucosidic ellagitannins (**1-8**) was obtained from standard calibration curves. The calibration curves were obtained by injecting each *C*-glucosidic ellagitannin (**1-8**) in increasing concentrations ranging from 0.1 mg/L to 20 mg/L. Therefore, each of the 8 *C*-glucosidic ellagitannins was quantified according to its own calibration curve. Stock solutions of β-1-*O*-ethylvescalagin (**9**), brandy tannin B (**12**) and whiskey tannin B1 (**10**) and B2 (**11**) (two isomers forms) (1 g/L for each compound) were also prepared. The calibration curves were performed from 0.1 mg/L to 20 mg/L. The concentrations of β-1-*O*-ethylvescalin (**13**) were expressed as β-1-*O*-ethylvescalagin equivalents. In the same way, brandy tannin A

(16), whiskey tannin A1 (14) and A2 (15) were expressed as brandy tannin B (12), whiskey tannin B1 (10) and B2 (11) equivalent respectively. The quantification of each compound was performed using their molecular ion Table 2.

Table 2. HPLC retention times and mass fragmentation patterns of the reference compounds (1-16)

Compounds	Retention time (min)	<i>m/z</i>
Vescalagin (1)	8.0	933 ^a , 915, 613, 301
Castalagin (2)	13.5	933 ^a , 915, 613, 301
Grandinin (3)	5.6	1065 ^a , 915, 613, 301
Roburin E (4)	7.1	1065 ^a , 915, 613, 301
Roburin A (5)	3.9	1849, 933, 924 ^a , 915, 301
Roburin D (6)	5.8	1849, 933, 924 ^a , 915, 301
Roburin B (7)	3.9	1981, 1065, 990 ^a , 915, 301
Roburin C (8)	4.2	1981, 1065, 990 ^a , 915, 301
β -1- <i>O</i> -ethylvescalagin (9)	21.2	961 ^a , 915, 480, 301
Whiskey tannin B1 (10)	24.0 and 26.4	977 ^a , 933, 675, 631, 301
Whiskey tannin B2 (11)	24.0 and 26.4	977 ^a , 933, 675, 631, 301
Brandy tannin B (12)	32.5	1005 ^a , 703, 301
β -1- <i>O</i> -ethylvescalin (13)	21.4	659 ^a
Whiskey tannin A1 (14)	4.9 and 8.6	675 ^a
Whiskey tannin A2 (15)	4.9 and 8.6	675 ^a
Brandy tannin A (16)	27.7	703 ^a

^aIon used for the quantification

Statistical treatment

All the statistical treatments were performed using Rstudio software (Rstudio Inc., Boston, USA, 2018). Normality and homocedasticity of the residuals were evaluated for all parameters, using the Shapiro–Wilk test and Levene’s test, respectively. As populations were normally distributed and presented homogeneity in variance, parametric tests were used. The data was therefore submitted to two-way ANOVA (toasting temperature x toasting duration). If the interaction *p*-value was statistically significant ($p \leq 0.05$), a Tukey test was directly applied to evaluate the degree of the significant differences. If not, prior to the Tukey evaluation, a one-way ANOVA was run individually for data corresponding to each significant factor. If parametric tests could not be used, non-parametric tests were performed using Kruskal Wallis

and Pairwise-Wilcoxon as post-hoc. Principal Component Analysis (PCA) was applied as a multivariate statistical tool to examine any possible grouping of samples according to toasting.

Conclusions

Kinetics of sixteen C-glucosidic ellagitannins were analyzed for the first time in Cognac eaux-de-vie after 18 months of aging. The influence of the toasting level of the barrels on the ellagitannin content and trends was also studied.

The eight oak C-glucosidic ellagitannins (**1-8**) increased during the first three months and then decreased gradually afterwards. Regarding the ellagitannin-derived spirit compounds (**9-16**), their levels increased with aging time. During the first three months of aging, their non-hydrolyzed forms, such as whiskey tannin B, brandy tannin B and β -1-O-ethylvescalagin (**9**), were predominant. After 9 months, however, their hydrolyzed forms, such as whiskey tannins A1 (**14**), A1 (**15**) and brandy tannin A (**16**), formed faster. Concerning toasting influence, toasting length had a strong impact on these compounds, mainly after 18 months. Slow toasting gave rise to more ellagitannin extraction than normal toasting. Overall, a clear toasting differentiation was observed by ellagitannin levels, with HTN samples indicating the highest β -1-O-ethylvescalin (**13**) levels, in particular. It would be interesting to follow these kinetics further until three years, which corresponds to the minimum Cognac aging period. The goal would be to conduct research into which ellagitannin-derived spirit compounds could be stable over time and contribute to Cognac organoleptic quality.

Funding: This research was funded by Courvoisier SAS and Suntory group, grant number 2018 /1279.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: There are no publicly archived datasets analyzed or generated during the study.

Acknowledgments: The authors would like to thank Courvoisier company and Suntory company for their financial support and Prof. Stéphane Quideau (ISM) for providing the C-glucosidic ellagitannin standards. The authors would also like to thank the Jarnac cooperage for the production of the barrels used in this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

Sample Availability: Samples of the compounds are available from the authors.

References

1. Scalbert, A.; Monties, B.; Favre, J.-M. Polyphenols of *Quercus Robur*: Adult Tree and in Vitro Grown Calli and Shoots. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3483–3488, doi:10.1016/0031-9422(88)80753-2.
2. Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T. Classification of Oligomeric Hydrolysable Tannins and Specificity of Their Occurrence in Plants. *Phytochemistry* **1993**, *32*, 507–521.
3. 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. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1967**, *707*, 177–181.
4. Mayer, W.; Seitz, H.; Jochims, J.C. Über Die Gerbstoffe Aus Dem Holz Der Edelkastanie Und Der Eiche, IV1) Die Struktur Des Castalagins. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1969**, *721*, 186–193.
5. Mayer, W.; Seitz, H.; Jochims, J.C.; Schauerte, K.; Schilling, G. Über Die Gerbstoffe Aus Dem Holz Der Edelkastanie Und Eiche, VI. Struktur Des Vescalagins. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1971**, *751*, 60–68.
6. Zhang, B.; Cai, J.; Duan, C.-Q.; Reeves, M.J.; He, F. A Review of Polyphenolics in Oak Woods. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 6978–7014, doi:10.3390/ijms16046978.
7. Du Penhoat, C.L.H.; Michon, V.M.; Ohassan, A.; Peng, S.; Scalbert, A.; Gage, D. Roburin A, a Dimeric Ellagitannin from Heartwood of *Quercus Robur*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 329–332.
8. Penhoat, C.L.H.; Veronique, M. Structural Elucidation of New Dimeric Ellagitannins from *Quercus Robur* L. Roburins A–E. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1991**, 1653–1660.
9. Fernandez de Simon, B. (Instituto N. des I.A.; Cadahia, E.; Conde, E.; Garcia Vallejo, M.C. Ellagitannins in Woods of Spanish Oaks. *J. Sci. Tech. Tonnelerie Fr.* **1998**.
10. García-Estévez, I.; Alcalde-Eon, C.; Le Grottaglie, L.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Escribano-Bailón, M.T. Understanding the Ellagitannin Extraction Process from Oak Wood. *Tetrahedron* **2015**, *71*, 3089–3094, doi:10.1016/j.tet.2014.10.047.

11. García-Estévez, I.; Escribano-Bailón, M.T.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Alcalde-Eon, C. Effect of the Type of Oak Barrels Employed during Ageing on the Ellagitannin Profile of Wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* **2017**, *23*, 334–341, doi:10.1111/ajgw.12292.
12. 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.
13. Simón, B.F. de; Cadahía, E.; Conde, E.; García-Vallejo, M.C. Ellagitannins in Woods of Spanish, French and American Oaks. *Holzforschung* **1999**, *53*, doi:10.1515/HF.1999.024.
14. Canas, S. Phenolic Composition and Related Properties of Aged Wine Spirits: Influence of Barrel Characteristics. A Review. *Beverages* **2017**, *3*, 55, doi:10.3390/beverages3040055.
15. 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. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3677–3684, doi:10.1021/jf010288r.
16. Cadahía, E.; Fernández de Simón, B.; Jalocha, J. Volatile Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods after Natural Seasoning and Toasting. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5923–5932, doi:10.1021/jf0302456.
17. Chira, K.; Anguelli, L.; Da Costa, G.; Richard, T.; Pedrot, E.; Jourdes, M.; Teissedre, P.-L. New C-Glycosidic Ellagitannins Formed upon Oak Wood Toasting, Identification and Sensory Evaluation. *Foods* **2020**, *9*, doi:10.3390/foods9101477.
18. Jordão, A.M.; Ricardo-da-Silva, J.M.; Laureano, O.; Adams, A.; Demyttenaere, J.; Verhé, R.; De Kimpe, N. Volatile Composition Analysis by Solid-Phase Microextraction Applied to Oak Wood Used in Cooperage (*Quercus Pyrenaica* and *Quercus Petraea*): Effect of Botanical Species and Toasting Process. *J. Wood Sci.* **2006**, *52*, 514–521, doi:10.1007/s10086-005-0796-6.
19. Mosedale, J.R.; Puech, J.-L. Wood Maturation of Distilled Beverages. *Trends Food Sci. Technol.* **1998**, 95–101.
20. Snackers, G.; Boulesteix, J.-M.; Estréguil, S.; Gaschet, J.; Lablanquie, O.; Faure, A.; Cantagrel, R. Effect of Oak Wood Heating on Cognac Spirit Matured in New Barrel: A Pilot Study. *OENO One* **2003**, *37*, 243–255, doi:10.20870/oenone.2003.37.4.960.

21. Chira, K.; Teissedre, P.-L. Chemical and Sensory Evaluation of Wine Matured in Oak Barrel: Effect of Oak Species Involved and Toasting Process. *Eur. Food Res. Technol.* **2015**, *240*, 533–547, doi:10.1007/s00217-014-2352-3.
22. Frangipane, M.T.; Santis, D.D.; Ceccarelli, A. Influence of Oak Woods of Different Geographical Origins on Quality of Wines Aged in Barriques and Using Oak Chips. *Food Chem.* **2007**, *103*, 46–54, doi:10.1016/j.foodchem.2006.07.070.
23. 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. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 1531, doi:10.1007/s00216-011-4949-8.
24. García-Estévez, I.; Escribano-Bailón, M.T.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Alcalde-Eon, C. Validation of a Mass Spectrometry Method To Quantify Oak Ellagitannins in Wine Samples. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 1373–1379, doi:10.1021/jf203836a.
25. Chira, K.; Teissedre, P.-L. Relation between Volatile Composition, Ellagitannin Content and Sensory Perception of Oak Wood Chips Representing Different Toasting Processes. *Eur. Food Res. Technol.* **2013**, *236*, 735–746, doi:10.1007/s00217-013-1930-0.
26. González-Centeno, M.R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Ellagitannin Content, Volatile Composition and Sensory Profile of Wines from Different Countries Matured in Oak Barrels Subjected to Different Toasting Methods. *Food Chem.* **2016**, *210*, 500–511, doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.139.
27. Hofmann, T.; Glabasnia, A.; Schwarz, B.; Wisman, K.N.; Gangwer, K.A.; Hagerman, A.E. Protein Binding and Astringent Taste of a Polymeric Procyanidin, 1,2,3,4,6-Penta-*O*-Galloyl- β -D-Glucopyranose, Castalagin, and Grandinin. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 9503–9509, doi:10.1021/jf062272c.
28. Schwarz, M.; Rodríguez, M.; Martínez, C.; Bosquet, V.; Guillén, D.; Barroso, C.G. Antioxidant Activity of Brandy de Jerez and Other Aged Distillates, and Correlation with Their Polyphenolic Content. *Food Chem.* **2009**, *116*, 29–33, doi:10.1016/j.foodchem.2009.01.096.
29. Vivas, N.; Vivas de Gaulejac, N.; Bourden-Nonier, M.-F.; Mouche, C.; Rossy, C. Extraction of Phenolics from New Oak Casks during Spirit Maturation: Impact on Spirit Colour. *J. Inst. Brew.* **2020**, *126*, 83–89, doi:10.1002/jib.586.

30. Canas, S.; Casanova, V.; Pedro Belchior, A. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Portuguese Wine Aged Brandies. *J. Food Compos. Anal.* **2008**, *21*, 626–633, doi:10.1016/j.jfca.2008.07.001.
31. Gadrat, M.; Lavergne, J.; Emo, C.; Teissedre, P.-L.; Chira, K. Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitannins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels. *Food Chem.* **2021**, *342*, 128223, doi:10.1016/j.foodchem.2020.128223.
32. 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. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7349–7354, doi:10.1021/jf061724i.
33. Jourdes, M. Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins C-glycosidiques et flavano-ellagitannins, Bordeaux: Bordeaux, 2003.
34. Fujieda, M.; Tanaka, T.; Suwa, Y.; Koshimizu, S.; Kouno, I. Isolation and Structure of Whiskey Polyphenols Produced by Oxidation of Oak Wood Ellagitannins. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 7305–10, doi:10.1021/jf8012713.
35. Gadrat, M.; Capello, Y.; Emo, C.; Lavergne, J.; Quideau, S.; Jourdes, M.; Teissèdre, P.-L.D. de thèse; Chira, K. Identification, Quantification and Sensory Contribution of New C-Glucosidic Ellagitannin-Derived Spirit Compounds. *Food Chem.* **n.d.**, *submitted*.
36. Winstel, D.; Gautier, E.; Marchal, A. Role of Oak Coumarins in the Taste of Wines and Spirits: Identification, Quantitation, and Sensory Contribution through Perceptive Interactions. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 7434–7443, doi:10.1021/acs.jafc.0c02619.
37. Rasines-Perea; Jacquet; Jourdes; Quideau; Teissedre Ellagitannins and Flavano-Ellagitannins: Red Wines Tendency in Different Areas, Barrel Origin and Ageing Time in Barrel and Bottle. *Biomolecules* **2019**, *9*, 316, doi:10.3390/biom9080316.
38. Winstel, D.; Capello, Y.; Quideau, S.; Marchal, A. Isolation of a New Taste-Active Brandy Tannin A: Structural Elucidation, Quantitation and Sensory Assessment. *Food Chem.* **n.d.**, *submitted*.
39. Jordão, A.M.; Ricardo-da-Silva, J.M.; Laureano, O. Ellagitannins from Portuguese Oak Wood (*Quercus Pyrenaica* Willd.) Used in Cooperage: Influence of Geographical Origin, Coarseness of the Grain and Toasting Level. *Holzforschung* **2007**, *61*, 155–160, doi:10.1515/HF.2007.028.
40. Quideau, S.; Varadinova, T.; Karagiozova, D.; Jourdes, M.; Pardon, P.; Baudry, C.; Genova, P.; Diakov, T.; Petrova, R. Main Structural and Stereochemical Aspects of the

Antiherpetic Activity of Nonahydroxyterphenoyl-Containing C-Glycosidic Ellagitannins. *Chem. Biodivers.* **2004**, *1*, 247–258, doi:10.1002/cbdv.200490021.

4. ANALYSES DES COMPOSES AROMATIQUES DU BOIS DANS LES EAUX-DEVIE DE COGNAC

4.1. Introduction

Les eaux-de-vie de Cognac extraient de nombreux composés aromatiques du bois lors du vieillissement en barrique. Cette extraction et une transformation plus ou moins intense de ces constituants du bois participent alors à l'arôme et au bouquet de ces eaux-de-vie. Afin de compléter les analyses chimiques concernant l'évolution des ellagitanins dans les eaux-de-vie de Cognac, le dosage des composés volatils du bois de chêne a été réalisé par le laboratoire d'analyses de la Maison Courvoisier (Jarnac). Pour cette étude, différentes familles de composés chimiques ont été étudiées. Tout d'abord, des composés originaires de la dégradation thermique de la lignine, à savoir quatre aldéhydes phénoliques (vanilline, syringaldéhyde, coniféraldéhyde et sinapaldéhyde), connus pour contribuer à l'arôme de vanille des vins et spiritueux ont été étudiés, ainsi qu'un phénol volatile ou méthoxybenzène, le guaiacol, connu pour ses arômes de fumé et toasté. Ont ensuite été étudiées les lactones *cis*-whiskylactone et *trans*-whiskylactone également nommées β -méthyl- γ -octalactones, provenant de la déshydratation de certains dérivés d'acides gras présents dans le bois et responsables de l'arôme de noix de coco. Trois dérivés furaniques produits par les polysaccharides du bois ont également été dosés, le furfural, le 5-méthylfurfural (5MF) et le 5-hydroxyméthylfurfural (5HMF). Ces composés contribuent également aux arômes toasté et amande des vins et spiritueux (Zamora, 2019). Enfin, les terpènes comprenant deux monoterpènes, l'eucayptol et l' α -terpinène, ainsi qu'un alcool monoterpénique, l' α -terpineol ont été étudiés. Ces composés sont également des composants des arômes variétaux présents dans le raisin. Ils sont associés à des arômes floraux, agrumes et mentholés (Thibaud *et al.*, 2020).

L'impact de la chauffe de la barrique sur les teneurs en composés aromatiques et leur évolution au cours du vieillissement des eaux-de-vie ont été recherchés afin d'avoir un point de vue plus global de l'impact de la chauffe sur la composition des eaux-de-vie de Cognac. Les 14 composés cités ci-dessus ont donc été dosés à tous les temps de prélèvements (1 mois, 3 mois, 6 mois, 9 mois et 12 mois) des eaux-de-vie lors de la première année de vieillissement.

Pour se faire, les aldéhydes phénoliques et les dérivés furaniques ont été dosés par HPLC (1260, Agilent) avec une colonne Biochrom Excelspher 120-ODS (150 x 4,6 mm, 2,5 μ m de taille de particules). Les solvants utilisés étaient l'eau milliQ et le méthanol, le débit était de 1 mL/min,

et le volume d'injection était de 20 μ L. Les longueurs d'ondes utilisées pour l'acquisition des signaux étaient de 292 nm et de 344 nm. Tous les autres composés étaient dosés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). L'appareil utilisé était un TQ8040 (Shimadzu) et la colonne était une colonne DB 5 ms UI. Les échantillons étaient injectés en mode splitless, c'est-à-dire que la totalité de l'échantillon était vaporisé dans la colonne. Cette méthode est utilisée notamment dans la recherche de traces, lorsque les analytes sont présents en très faible concentration. La température d'injection était de 250 °C, et la température du four était au départ de 45 °C et montait jusqu'à 240 °C.

4.2. Impact de la chauffe de la barrique sur la composition aromatique du bois de chêne dans les eaux-de-vie de Cognac au cours du vieillissement

Afin d'observer si les composés volatils extraits du bois par les eaux-de-vie sont impactés par la chauffe du bois, des Analyses en Composantes Principales (ACP) ont été réalisées à tous les temps de prélèvements. Dès le premier mois de vieillissement de l'eau-de-vie, la chauffe de la barrique semble influencer les concentrations en composés volatils car des différences marquées entre les chauffes sont retrouvées (Figure 34A). Les eaux-de-vie vieilles dans les barriques à différentes chauffes sont différenciées selon leurs teneurs en composés volatils du bois. Les résultats montrent que la température et la durée de la chauffe impactent la composition volatile du bois car les deux chauffes faibles LTN et LTS apparaissent comme étant distinguées l'une de l'autre, comme c'est aussi le cas pour les deux chauffes moyennes MTN et MTS et les deux chauffes fortes HTN et HTS. En revanche, aucune différenciation entre les chauffes MT+N, MT+S et MTS ne semble être possible. La Figure 34B montre le cercle de corrélation des variables quantitatives sur les deux premières dimensions qui expliquent à elles deux 75,3 % de la variance. Il semblerait que les aldéhydes phénoliques ainsi que les dérivés furaniques évoluent de la même façon, tout comme il semblerait que ce soit le cas pour les lactones, l'eucalyptol et l' α -terpinéol.

La Figure 35A représente la répartition des individus en fonction des chauffes de la barrique à 12 mois de vieillissement. Il apparaît que le vieillissement des eaux-de-vie en barrique ne semble pas impacter fortement l'évolution des composés car les mêmes différences entre les chauffes sont retrouvées, excepté qu'une différenciation entre les chauffes MTS et MT+N apparaît. De plus, la Figure 35B montre le cercle de corrélation des différentes variables sur les deux premières dimensions, qui expliquent 73,2 % de la variance. Il semblerait que les aldéhydes phénoliques ainsi que les dérivés furaniques évoluent toujours de la même manière après un an de vieillissement, et que le guaiacol serait également corrélé à ces composés. De

même, les lactones, l'eucalyptol et l' α -terpinéol semblent également ne pas avoir été impactés par le vieillissement des eaux-de-vie car ils évoluent dans le même sens comme à 1 mois de vieillissement. En revanche, ces composés semblent être anti-corrélés au deuxième monoterpène étudié, l' α -terpinène.

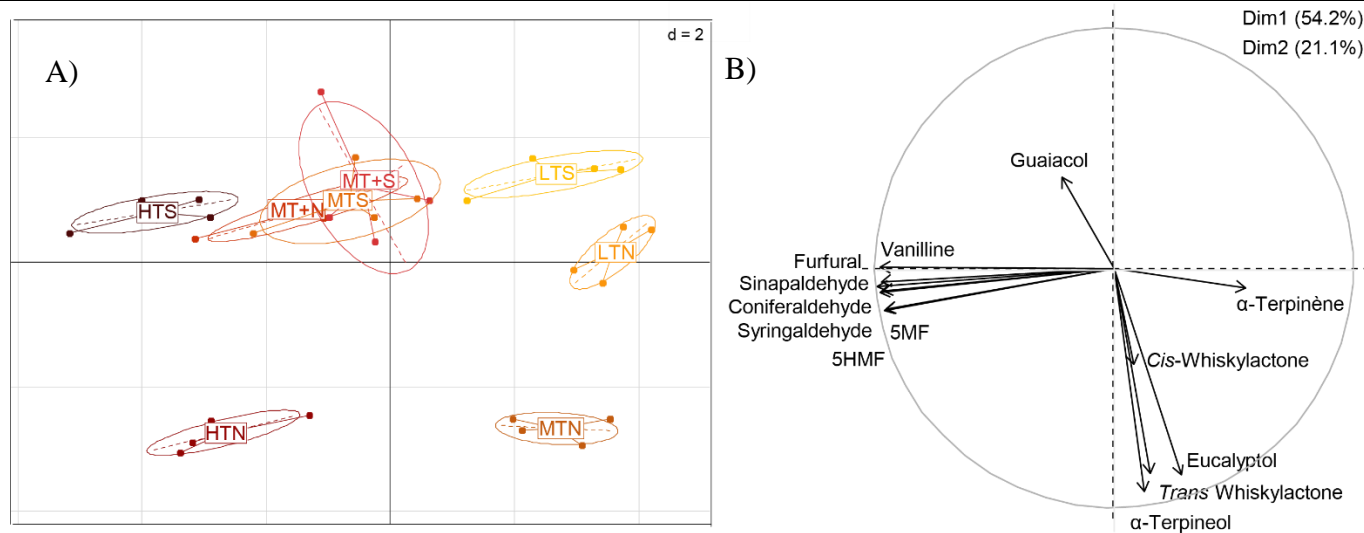


Figure 34. Analyse en Composante Principale (ACP) sur deux dimensions après 1 mois de vieillissement représentant A) la carte de répartition des individus en fonction des chauffes et B) le cercle de corrélation des variables associées.

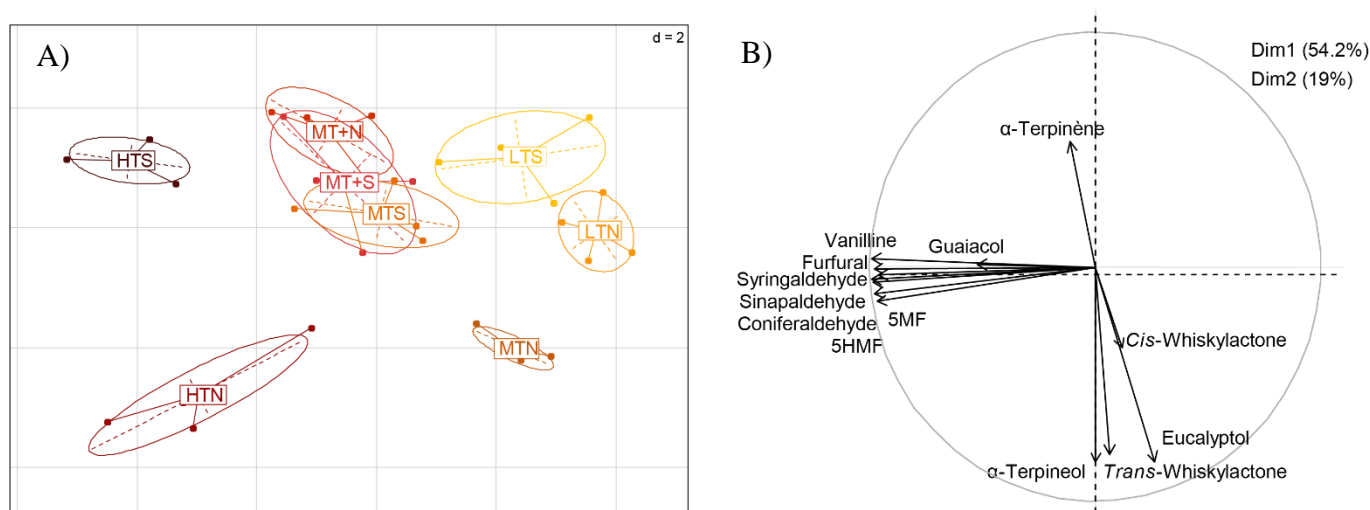


Figure 35. Analyse en Composante Principale (ACP) sur deux dimensions après 12 mois de vieillissement représentant A) la carte de répartition des individus en fonction des chauffes et B) le cercle de corrélation des variables associées.

4.3. Evolution de la concentration des composés volatils du bois dans les eaux-de-vie de Cognac lors de la première année de vieillissement

Après avoir observé que la chauffe de la barrique avait un impact sur les concentrations en composés volatils du bois, nous nous sommes intéressés à leur cinétique d'évolution lors de la première année du vieillissement. Il apparaît que pour les huit chauffes, l'évolution des concentrations est la même pour tous les composés (Figure 36). L'extraction semble la plus rapide lors des trois premiers mois du vieillissement, puis une extraction plus lente est observée jusqu'à atteindre un plateau à 9 mois. L'évolution semblerait toutefois être différente pour le syringaldéhyde qui voit ses concentrations augmenter tout au long du vieillissement. De plus, les résultats confirment l'impact de la chauffe sur les concentrations en composés volatils car les concentrations sont beaucoup plus élevées dans des eaux-de-vie vieilles dans les barriques fabriquées avec des chauffes fortes, que dans celles fabriquées avec des chauffes faibles. On retrouve également une différence entre la chauffe MTN et les autres chauffes moyennes MTS, MT+N et MT+S car de façon générale, les composés possèdent des teneurs identiques avec ces trois dernières chauffes, qui sont plus importantes que celles retrouvées avec la chauffe moyenne MTN. Les teneurs en composés volatils du bois dans les eaux-de-vie de Cognac à 12 mois de vieillissement sont représentées dans le Tableau 2. Les aldéhydes phénoliques et les dérivés furaniques présentent les concentrations les plus élevées dans les eaux-de-vie vieilles en barriques HTN et HTS, alors que les autres composés semblent plus extraits des barriques avec chauffe faible ou moyenne.

La vanilline, molécule odorante décrite comme ayant un arôme de vanille possède un seuil de détection olfactif de 22 µg/L dans une solution hydroalcoolique à 40% (v/v) (Frantiza *et al.*, 2016; Poisson & Schieberle, 2008). Les concentrations les plus faibles retrouvées dans les eaux-de-vie de l'étude sont de l'ordre de 590 µg/L pour la chauffe LTN, soit bien au-dessus du seuil de perception, donc ce composé devrait intervenir dans la perception de l'odeur de vanille des eaux-de-vie. En revanche, les seuils de perception retrouvés pour les trois autres aldéhydes phénoliques (Cameleyre, 2017; Miller, 2019; Tao, 2014) sont bien en-dessous des concentrations retrouvées dans les eaux-de-vie, mais ces composés peuvent tout de même impacter l'arôme du Cognac par des interactions perceptives avec d'autres composés.

La *cis*-whiskylactone est retrouvée en quantités plus importantes que la *trans*-whiskylactone dans toutes les eaux-de-vie, quelle que soit la chauffe de barrique utilisée.

De plus, ces composés contribuant à l'odeur de noix de coco ont des seuils de détection olfactifs très différents selon l'isomère en question. La *cis*-whiskylactone présente un seuil environ dix

fois plus bas (67 µg/L) que son isomère la *trans*-whiskylactone (790 µg/L) dans une solution hydroalcoolique à 30 % (v/v) (Abbott *et al.*, 1995; Otsuka *et al.*, 1974). Les concentrations en *cis*-whiskylactone retrouvées sont également supérieures au seuil de perception. C'est également le cas pour le guaiacol, l'eucalyptol et le furfural qui semblent également contribuer de façon directe à l'arôme des eaux-de-vie. L'eucalyptol est d'ailleurs connu pour apporter de la fraîcheur, avec des notes d'eucalyptus. Leurs seuils de détection ont été mesurés dans des solutions hydroalcooliques à 40 % (v/v) et sont en-dessous des concentrations retrouvées dans les eaux-de-vie. En effet, le seuil du guaiacol a été mesuré à 9,2 µg/L (Lee *et al.*, 2000a), celui de l'eucalyptol à 2,2 µg/L (Thibaud *et al.*, 2020) et pour le furfural il était de 5,8 mg/L (Lee *et al.*, 2000b; Salo *et al.*, 1972). En revanche, les seuils de détection des autres dérivés furaniques 5-MF et 5-HMF n'ont pas été décrits dans les spiritueux, et l' α -terpinène ainsi que l' α -terpinéol ont été retrouvés à des concentrations inférieures à leurs seuils de détection olfactifs (Thibaud *et al.*, 2020).

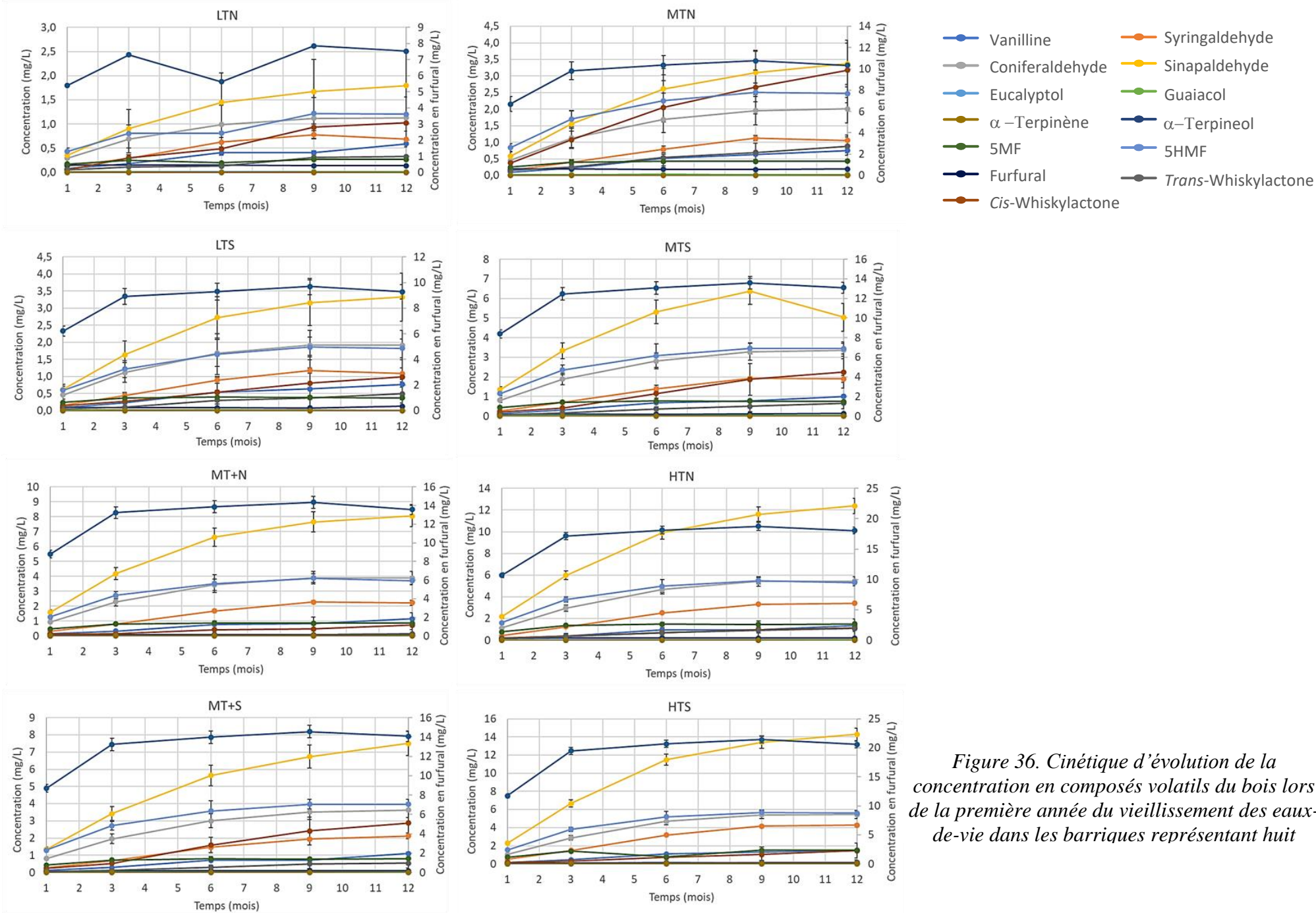


Figure 36. Cinétique d'évolution de la concentration en composés volatils du bois lors de la première année du vieillissement des eaux-de-vie dans les barriques représentant huit

Tableau 2. Concentrations des composés volatils du bois retrouvées dans les eaux-de-vie de Cognac de 12 mois vieilles dans les barriques représentant différentes chauffes.

Composés	LTN	LTS	MTN	MTS	MT+N	MT+S	HTN	HTS
Vanilline (mg/L)	0,59 ± 0,07 ^a	0,76 ± 0,76	0,75 ± 0,09	1,00 ± 0,09	1,15 ± 0,09	1,10 ± 0,11	1,35 ± 0,09	1,49 ± 0,10
Syringaldehyde (mg/L)	0,68 ± 0,17	1,08 ± 0,39	1,05 ± 0,17	1,89 ± 0,56	2,22 ± 0,32	2,12 ± 0,49	3,41 ± 0,60	4,25 ± 0,79
Coniferaldehyde (mg/L)	1,13 ± 0,43	1,92 ± 0,86	2,01 ± 0,38	3,35 ± 0,84	3,89 ± 0,43	3,63 ± 0,35	5,44 ± 0,48	5,43 ± 0,46
Sinapaldehyde (mg/L)	1,79 ± 0,71	3,32 ± 1,54	3,37 ± 0,79	5,03 ± 1,50	8,05 ± 1,39	7,50 ± 1,60	12,38 ± 1,72	14,28 ± 2,14
Guaiacol (µg/L)	10,36 ± 3,39	10,92 ± 4,69	26,52 ± 13,06	42,18 ± 9,89	36,27 ± 8,20	33,89 ± 12,60	34,10 ± 18,40	29,17 ± 12,50
Eucalyptol (µg/L)	8,74 ± 0,86	3,67 ± 2,10	9,67 ± 0,95	2,19 ± 0,46	2,12 ± 0,33	2,03 ± 0,41	10,01 ± 1,12	2,63 ± 0,20
α-Terpinene (µg/L)	0,47 ± 0,04	1,26 ± 0,74	0,59 ± 0,06	0,66 ± 0,27	0,92 ± 0,18	0,86 ± 0,25	0,37 ± 0,20	1,09 ± 0,12
α-Terpineol (mg/L)	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,08	0,19 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,12 ± 0,00
Cis-whiskylactone (mg/L)	1,02 ± 0,82	0,99 ± 0,23	3,18 ± 0,60	2,24 ± 1,24	0,73 ± 0,79	2,87 ± 1,63	1,15 ± 1,27	1,45 ± 1,34
Trans-whiskylactone(mg/L)	0,33 ± 0,28	0,50 ± 0,19	0,89 ± 0,18	0,65 ± 0,22	0,15 ± 0,17	0,54 ± 0,34	1,09 ± 0,20	0,16 ± 0,08
Furfural (mg/L)	7,52 ± 0,56	9,28 ± 1,33	10,32 ± 0,81	13,09 ± 2,18	13,58 ± 1,13	14,07 ± 0,98	18,05 ± 2,67	20,58 ± 1,35
5MF (mg/L)	0,27 ± 0,05	0,37 ± 0,12	0,44 ± 0,08	0,75 ± 0,28	0,87 ± 0,10	0,81 ± 0,10	1,50 ± 0,35	1,52 ± 0,08
5HMF (mg/L)	1,21 ± 0,28	1,82 ± 0,56	2,47 ± 0,41	3,44 ± 0,87	3,71 ± 0,43	3,97 ± 0,31	5,31 ± 1,11	5,60 ± 0,18

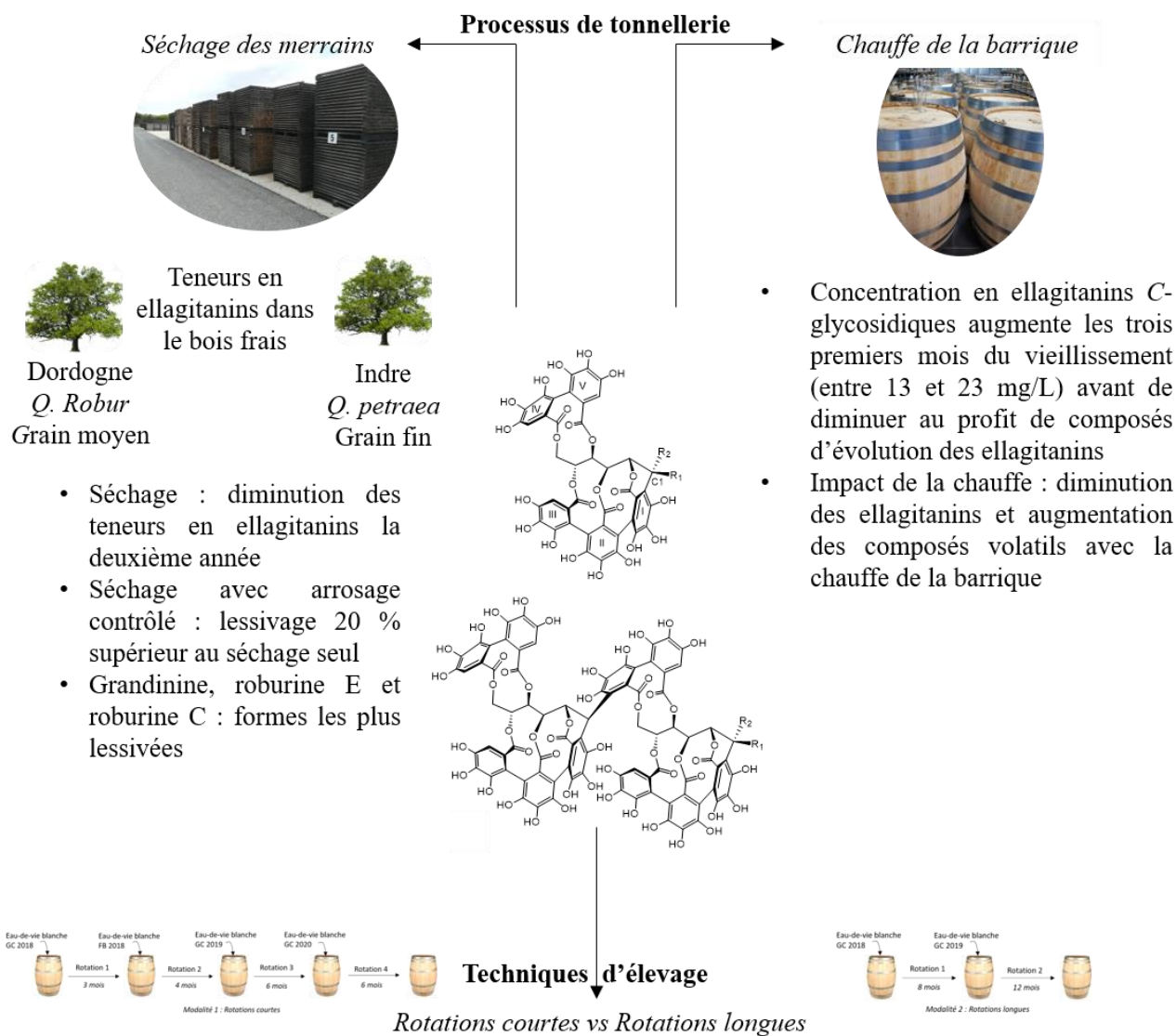
^aLes concentrations représentent la moyenne de quatre réplicats ± l'intervalle de confiance au seuil de 5 %.

4.4. Conclusion

Le dosage des composés volatils apportés par le bois a permis de compléter l'étude sur les ellagitanins afin d'avoir un point de vue plus global de l'effet que la chauffe de la barrique a sur les composés du bois. Il a été observé qu'au cours de la première année du vieillissement la chauffe de la barrique impacte fortement l'extraction des composés volatils, et que ces derniers contribuent largement à l'arôme des eaux-de-vie de Cognac, que ce soit de façon directe lorsque leurs concentrations retrouvées sont supérieures à leurs seuils de détection, ou probablement de façon indirecte par des interactions perceptives entre les composés de cette matrice complexe.

5. CONCLUSION

Quelle est l'influence des processus de tonnellerie et des techniques d'élevage sur le comportement des ellagitanins C-glycosidiques ?



- Barrique neuve : Extraction rapide des ellagitanins par l'eau-de-vie lors des premiers mois de contact avec le bois avant l'obtention d'un plateau
- Rotations : Somme des huit ellagitanins C-glycosidiques identique dans les eaux-de-vie quelque soit le type de rotations (10 mg/L)
- Proportion de chacun des ellagitanins différente selon le type de rotations : castalagine moins extraite lors des rotations longues contrairement à la vescalagine, grandinine et roburine D

Schéma bilan. Principales conclusions concernant l'étude des processus de tonnellerie et des techniques d'élevage sur les teneurs en ellagitanins.

Le schéma bilan ci-dessus synthétise les premiers résultats du Chapitre 2, qui nous a permis d'approfondir les connaissances sur l'influence des processus de tonnellerie que sont le séchage et la chauffe, et les techniques d'élevage dans les chais de Cognac, sur le comportement des ellagitanins C-glucosidiques.

Le prochain chapitre de cette thèse va s'intéresser à la caractérisation sensorielle des eaux-de-vie vieilles 12 mois dans ces barriques fabriquées à huit chauffes différentes, afin d'étudier d'un point de vue pratique l'impact de la chauffe sur le goût et l'arôme des eaux-de-vie, et de compléter ainsi les analyses chimiques.

CHAPITRE 3 : CARACTERISATION SENSORIELLE DES EAUX-DE-VIE
DE COGNAC VIEILLIES DANS DES BARRIQUES FABRIQUEES AVEC
DIFFERENTES CHAUFFES

1. IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE SUR LA COULEUR DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC

La couleur fait partie intégrante de la caractérisation d'un produit. C'est le premier contact avec le produit, la première impression. C'est également un critère de qualité important. Le vieillissement en barrique influe sur la couleur des eaux-de-vie. A un an de vieillissement, certaines eaux-de-vie présentaient des différences de couleur dues à l'intensité de la chauffe des barriques dans lesquelles elles vieillissaient. Des analyses sensorielles permettant la caractérisation des eaux-de-vie vieilles un an dans les barriques représentant huit chauffes différentes ont alors été réalisées dans des verres noirs, afin de ne pas entraîner de biais sur la différenciation puis sur la caractérisation des eaux-de-vie. Les différences de couleur des huit eaux-de-vie (une eau-de-vie par chauffe de barrique) ont alors été étudiées par colorimétrie.

1.1. La colorimétrie par la méthode CIE

La colorimétrie est utilisée pour l'étude de la couleur d'un objet ou d'une source lumineuse au moyen d'une notation spécifique, telles que les chiffres. Les deux méthodes les plus connues sont l'espace couleur XYZ, développé en 1931, qui s'appuie sur les valeurs tristimulus XYZ définies par la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) et l'espace couleur $L^*a^*b^*$, conçu en 1976 de façon à réduire l'un des principaux problèmes de l'espace couleur XYZ, à savoir que des distances égales sur le diagramme de chromacité x, y ne représentent pas des différences égales de couleurs perçues. Le modèle CIELAB ($L^*a^*b^*$) modélise la vision humaine et est indépendant de tout matériau. C'est actuellement l'un des modèles les plus utilisés pour mesurer et caractériser la couleur des objets en se basant sur l'absorption de tout le spectre visible. Les relations non-linéaires pour L^* , a^* et b^* ont pour but d'imiter la réponse logarithmique de l'œil (dans l'espace $L^*a^*b^*$, l'œil détecte 1 point de variation de a^* ou b^* pour 5 points de L^*). La composante L^* est la clarté qui varie de 0 (noir) à 100 (blanc), alors que la composante a^* représente une gamme de 600 niveaux sur un axe allant du rouge (+299 valeur positive) au vert (-300 valeur négative) en passant par le gris (0), et que la composante b^* représente également une gamme de 600 niveaux sur un axe allant du jaune (+299 valeur positive) au bleu (-300 valeur négative) en passant par le gris (0) au centre.

La mesure s'effectue par balayage entre 380 et 770 nm avec des intervalles de 1, 5 ou 10 nm (Ayala *et al.*, 1997; CIE, 1986). Cette méthode a été adoptée par l'Organisation Internationale des Vins (OIV) en 2009 (OIV, 2009).

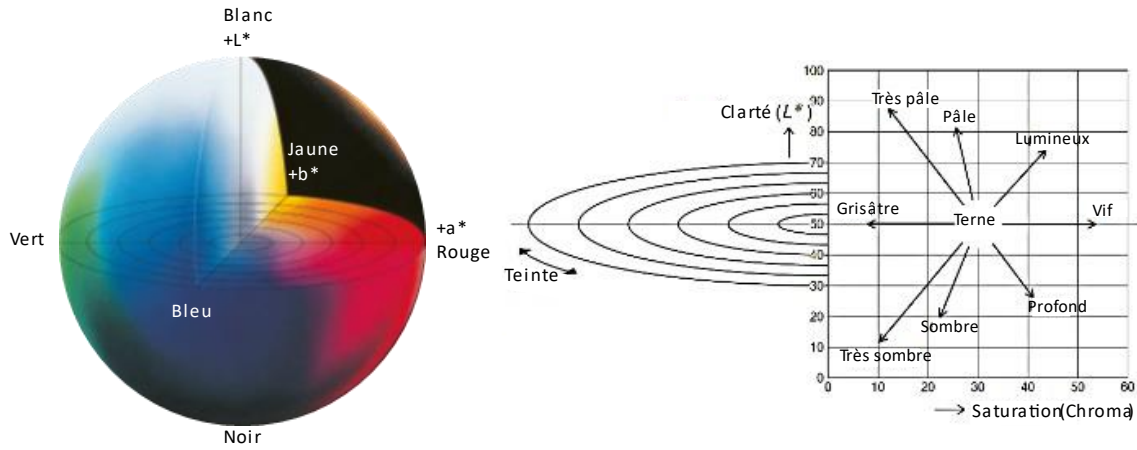


Figure 37. Représentation de l'espace couleur L^*a^*b (Konica Minolta, 2007)

Plus concrètement, les valeurs obtenues permettent de représenter la couleur des vins (García-Marino *et al.*, 2010; Recamales *et al.*, 2006) et spiritueux (Canas *et al.*, 2019; Vivas, Bourdenonier, *et al.*, 2020b) selon un modèle à trois axes orthogonaux, qui comprennent la clarté L^* et deux coordonnées de chromacité a^* et b^* . Les valeurs a^* et b^* indiquent la direction des couleurs : $+a^*$ vers le rouge, $-a^*$ vers le vert, $+b^*$ vers le jaune, et $-b^*$ vers le bleu. Les valeurs obtenues pour les vins rouges par exemple se trouvent dans la zone $[+a^*, +b^*]$.

Les couleurs de deux vins ou spiritueux peuvent être comparées dans l'espace couleur L^*a^*b . L'écart de couleur est exprimé par une seule valeur numérique, ΔE^*_{ab} , qui indique de combien et non pas comment ces deux couleurs sont différentes. L'équation qui permet de définir ΔE^*_{ab} est la suivante :

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Deux autres paramètres sont définis par la méthode CIE, tels que la saturation (chroma) C^*_{ab} et la teinte h_{ab} . C^*_{ab} est l'attribut qui permet de déterminer pour chaque teinte le degré de différence par rapport à une autre couleur de même luminosité, il est donc considéré comme l'attribut quantitatif de la colorimétrie. La teinte (h_{ab}) est l'attribut qualitatif selon lequel les couleurs ont été traditionnellement définies comme rougeâtres, verdâtres, etc. Il est lié aux différences d'absorption à différentes longueurs d'ondes. Ces deux paramètres CIE se calculent de la manière suivante :

$$C^*_{ab} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \text{ et } h_{ab} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

L'appareil utilisé était un spectrophotomètre Konica Minolta CM-5 équipé d'une source lumineuse D65 et contrôlé par le logiciel SpectraMagic NX. L'appareil a été calibré en transparent (0 %) et noir (100 %) avant chaque utilisation. 10 mL d'eau-de-vie ont été versées dans une cuve avec 1 cm de parcours optique. Les valeurs L^* , a^* et b^* ont été mesurées trois fois pour chaque échantillon, la moyenne et l'écart-type ont ainsi pu être calculés.

1.2. Impact de la chauffe de la barrique sur la couleur des eaux-de-vie vieilles un an en barrique

L'évolution de la couleur des eaux-de-vie durant la première année de vieillissement dans des barriques fabriquées à huit chauffes différentes a été évaluée en utilisant l'espace de couleur CIELAB avec la mesure des variables $L^*a^*b^*$ à l'aide du colorimètre.

Tableau 3. Valeurs moyennes des caractéristiques chromatiques mesurées pour les huit eaux-de-vie vieilles 12 mois dans les barriques fabriquées à huit chauffes différentes

Chauffe	Couleur	L^*	a^*	b^*	C^*_{ab}	h^*
LTN		99,14 ± 0,01	-2,79 ± 0,01	18,49 ± 0,00	18,70 ± 0,00	-1,42 ± 0,00
LTS		98,56 ± 0,00	-2,73 ± 0,01	20,59 ± 0,01	20,77 ± 0,01	-1,44 ± 0,00
MTN		98,46 ± 0,01	-2,68 ± 0,00	20,86 ± 0,01	21,03 ± 0,01	-1,44 ± 0,00
MTS		96,37 ± 0,01	-2,39 ± 0,01	28,77 ± 0,01	28,87 ± 0,01	-1,49 ± 0,00
MT+N		94,93 ± 0,01	-1,97 ± 0,00	33,63 ± 0,01	33,69 ± 0,01	-1,51 ± 0,00
MT+S		95,93 ± 0,00	-2,19 ± 0,01	29,84 ± 0,02	29,92 ± 0,02	-1,50 ± 0,00
HTN		94,08 ± 0,01	-1,33 ± 0,00	35,42 ± 0,01	35,44 ± 0,01	-1,53 ± 0,00
HTS		91,89 ± 0,01	-0,17 ± 0,00	43,05 ± 0,01	43,05 ± 0,01	-1,57 ± 0,00

Le Tableau 3 présente les variables CIELAB obtenues pour les huit eaux-de-vie, correspondant chacune à une chauffe de barrique. Plus la chauffe est forte, plus les valeurs de la saturation C^*_{ab} augmentent et plus celles de la teinte (h^*_{ab}) diminuent, ce qui montre des changements caractéristiques dans la couleur des eaux-de-vie, liés à la chauffe de la barrique. De plus, les valeurs de $L^*a^*b^*$ obtenues pour les huit eaux-de-vie vieilles dans les barriques aux huit chauffes ont été projetées dans l'espace couleur aux trois dimensions (Figure 38). Les eaux-de-vie ont été nommées par les huit chauffes et positionnées selon les coordonnées $L^*a^*b^*$. La clarté L^* peut aller de 0 à 100 %, et plus précisément du noir au blanc. Ici, toutes les eaux-de-vie ont des L^* compris entre 91,89 et 99,14 %, c'est pourquoi la clarté va du gris clair au blanc. La composante a^* va du rouge au vert quand elle est comprise entre + 299 et - 300. Les eaux-de-vie de l'étude ont toutes un a^* compris entre -0,17 et -2,79, qui varie donc légèrement autour d'un bleu pâle. Enfin, la composante b^* qui peut varier du jaune (+ 299) au bleu (-300), varie ici de 18,49 à 43,05, présentant ainsi un dégradé de jaune pâle. Plus précisément, on remarque

sur la Figure 38 que les huit eaux-de-vie se distinguent bien les unes des autres. Plus la chauffe est forte, plus la clarté L^* diminue, montrant ainsi qu'une chauffe de barrique faible (LTN, LTS) présentera des eaux-de-vie plus claires que les eaux-de-vie vieilles en barriques chauffées fortement (HTN, HTS). En revanche, plus la chauffe est forte, plus les composantes a^* et b^* augmentent pour tendre vers le gris (augmentation trop faible pour tendre vers le rouge à ce stade du vieillissement) et un jaune plus foncé. Une autre étude a étudié l'évolution de la couleur des eaux-de-vie, et plus particulièrement des brandy Portugais (Canas *et al.*, 2019). Les résultats étaient détaillés sur les 6 premiers mois du vieillissement, et montraient que la micro-oxygénation accentue la couleur des eaux-de-vie de la même manière qu'une chauffe de barrique forte. En effet, la micro-oxygénation permettrait une extraction plus rapide des composés du bois aux spiritueux, conduisant ainsi à une plus grande accumulation de composés phénoliques de faibles poids moléculaires, et par conséquent, à une plus grande évolution des caractéristiques chromatiques (faible luminosité, saturation plus élevée et intensité plus élevée des nuances rouges jaunes et brunes). Ces résultats pourraient être corrélés à ceux retrouvés pour la chauffe de la barrique, car une chauffe forte permet une dégradation de certains composés libérés par hydrolyse, et la formation d'autres composés, permettant ainsi l'obtention d'une couleur des eaux-de-vie similaire à celle obtenue par la micro-oxygénation.

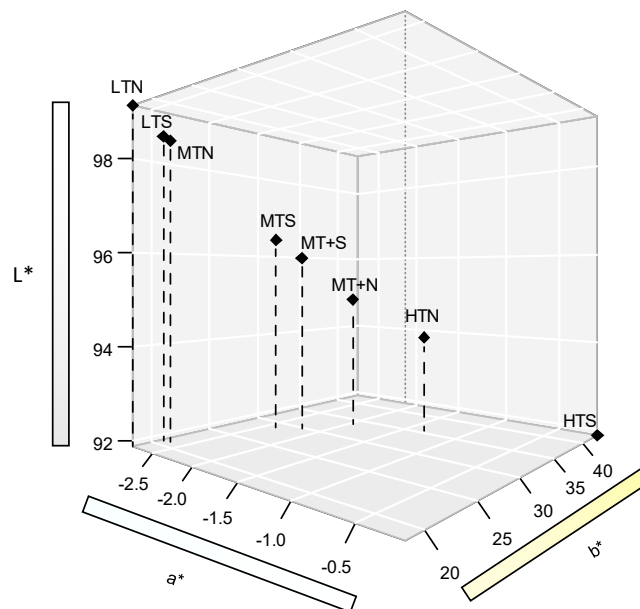


Figure 38. Positionnement dans l'espace à trois dimensions des eaux-de-vie vieilles 12 mois dans les barriques à huit chauffes différentes selon les axes L^* , a^* et b^* .

Afin de voir si les différences retrouvées pour les eaux-de-vie vieilles dans les barriques à huit chauffes différentes étaient visibles, le ΔE^*_{ab} a été calculé pour comparer les eaux-de-vie entre

elles. Un $\Delta E^*ab \geq 3$ permettrait de voir les différences de couleur entre les eaux-de-vie à l'œil nu (García-Marino *et al.*, 2010).

*Tableau 4. Valeurs du ΔE^*ab calculé à partir des paramètres CIE mesurés.*

ΔE^*ab	LTN	LTS	MTN	MTS	MT+N	MT+S	HTN
LTN							
LTS	2,18						
MTN	2,46	0,29					
MTS	10,65	8,48	8,19				
MT+N	15,74	13,56	13,28	5,09			
MT+S	11,81	9,64	9,35	1,18	3,93		
HTN	17,73	15,55	15,27	7,11	2,08	5,93	
HTS	25,74	23,57	23,28	15,13	10,05	13,95	13,95

Le Tableau 4 présente les valeurs ΔE^*ab entre les différentes eaux-de-vie. Quatre groupes d'eaux-de-vie sont formés, chacun composé d'eaux-de-vie présentant des différences significatives de couleur par rapport à celles des autres groupes, mais aucune différence de couleur n'est retrouvée pour les eaux-de-vie au sein d'un même groupe. Le premier groupe est formé des eaux-de-vie les plus claires et les plus pâles, notées LTN, LTS et MTN, et correspondant aux eaux-de-vie élevées en barriques chauffées faiblement et à une chauffée moyennement. Les eaux-de-vie MTS et MT+S composent le second groupe, les eaux-de-vie MT+N et HTN le troisième groupe, et enfin, l'eau-de-vie vieillie en barrique HTS a une couleur différente de toutes les autres, formant ainsi le quatrième groupe, comme visible sur la représentation des eaux-de-vie dans l'espace couleur Figure 38.

2. CARACTERISATION SENSORIELLE DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC A UN AN DE VIEILLISSEMENT : IMPACT DE LA CHAUFFE DE LA BARRIQUE

2.1. Introduction

Jusqu'ici, l'impact de la chauffe de la barrique sur les eaux-de-vie de Cognac n'a été étudié que d'un point de vue chimique. Plus particulièrement, il a été montré comment les ellagitanins évoluent dans cette matrice à haute teneur en alcool, selon la chauffe de la barrique. La composition volatile du bois de chêne a également été étudiée afin de compléter cette étude et d'avoir un point de vue plus global de l'effet de la chauffe sur la composition chimique.

Toutefois, d'un point de vue sensoriel, aucune étude n'a été réalisée à ce jour afin d'étudier l'impact de la chauffe de la barrique sur les eaux-de-vie de Cognac. Ainsi, une étude sensorielle a été menée sur les eaux-de-vie de la troisième modalité, à savoir les eaux-de-vie de GC 2019 élevées 18 mois dans les barriques. L'étude a consisté à une caractérisation sensorielle des eaux-de-vie à 12 mois de vieillissement. Pour cela, les échantillons d'eaux-de-vie des quatre réplicats de barrique d'une même chauffe ont été assemblés afin d'avoir une eau-de-vie par chauffe de barrique, soit huit eaux-de-vie dans l'étude. La première étape a consisté en une génération de descripteurs, suivie d'un entraînement de panel. Un profil descriptif a été réalisé, et l'étape finale a consisté en un test de classement qualitatif des eaux-de-vie.

Dans cette partie, d'autres tests statistiques ont été utilisés. Pour le traitement de la tâche de tri, le Multidimensional Scaling (MDS) a été utilisé. Il s'agit d'une méthode d'analyse permettant de reconstituer une carte d'individus à partir d'une matrice de proximités (similarités ou dissimilarités) entre les individus. La classification ascendante hiérarchique a également été utilisée. Il s'agit d'une méthode de classification qui calcule d'abord la dissimilarité entre différents objets. Des regroupements de produits seront alors effectués selon leurs similitudes, produisant ainsi un arbre binaire de classification : un dendrogramme dont la racine correspond à la classe regroupant l'ensemble des individus. Cette représentation permet d'obtenir une hiérarchisation des classes. Le test de Friedman a ensuite été utilisé lors du traitement du test de classement par rang. Il est utilisé pour évaluer s'il existe des différences statistiquement significatives ($p\text{-value} \leq 0,05$) entre les distributions de plusieurs groupes appariés. Si les résultats présentent une significativité, le test de Nemenyi est utilisé pour obtenir les rangs de significativité entre échantillons. Enfin le test d'appariement qui est une méthode rapide pour évaluer la proximité entre différents produits a été utilisé. C'est un test discriminatif pouvant être utilisé pour comparer différentes modalités et donner une estimation des différences entre les échantillons. Ce test se

réfère à la loi du χ^2 . Les valeurs de χ^2 obtenues pour chaque échantillon sont comparées avec la table du χ^2 pour un degré de liberté égale à 1 (Annexe 1).

2.2. Article : Sensory characterization of Cognac eaux-de-vie aged with barrels representing different toasting process

Les résultats de cette partie ont fait l'objet d'un article scientifique intitulé « Sensory characterization of Cognac eaux-de-vie aged with barrels representing different toasting process ». Cet article a été soumis le 21 septembre 2021 dans le journal Oeno One, puis accepté et publié le 3 janvier 2022.



Sensory characterisation of Cognac eaux-de-vie aged in barrels subjected to different toasting processes

Mathilde Gadrat^{1,2}, Joël Lavergne², Catherine Emo², Pierre-Louis Teissedre¹ and Kléopatra Chira¹

¹ Unité de recherche Oenologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, F33882, Villenave d'Ornon France

² Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France



*correspondence:
kleopatra.chira@u-bordeaux.fr

Associate editor:
Susan Bastian



Received:
21 September 2021

Accepted:
26 November 2021

Published:
3 January 2022



This article is published under
the **Creative Commons**
licence (CC BY 4.0).

*Use of all or part of the content
of this article must mention
the authors, the year of
publication, the title,
the name of the journal,
the volume, the pages
and the DOI in compliance with
the information given above.*

ABSTRACT

Toasting is a key step in the barrel-making process. It plays an important role in the breakdown of oak wood compounds and thus influences the chemical composition and organoleptic properties of wines and brandies. However, the effect of toasting on distilled spirit quality has not yet been extensively studied. The objective of this study was therefore to study the impact of toasting on cognac eaux-de-vie by characterising the eaux-de-vie sensorially after 12 months of ageing. Eight eaux-de-vie aged in barrels with 8 different toasts were studied. The 8 toasts represented 4 different temperatures (low, medium, medium plus and high) and two toasting lengths for each temperature (one so-called “normal” and the other “slow”). Sensory analysis was carried out on these eaux-de-vie through several tests. First, a sorting test showed the differences between the samples and then training was carried out on previously chosen descriptors in order to build a sensory profile and perform a ranking test. The study was realised for two alcohol levels: 60 % (v/v), which is the alcohol level of eaux-de-vie in barrels, and 40 % (v/v), which is the alcohol level of a commercial cognac. This approach demonstrated that barrel toasting generally leads to significant sensorial differences in eaux-de-vie during ageing. These differences are greater between a lightly and a highly toasted barrel. This study is a first step in the characterisation of cognac eaux-de-vie aged in barrels made with different toasts.

KEYWORDS: Cognac eau-de-vie, barrel toasting, sensory analysis, sorting task, ranking test, sensory profile

INTRODUCTION

For many years, wood has been used extensively in cooperage for the manufacture of barrels. Due to the unique mechanical properties of oak wood barrels in particular, their capacity to provide good thermal isolation (Vivas, 2002) - their structure is such that the casks will not leak - and their slight porosity which favours oxidation phenomena, they are more than just a container: they have become an essential tool for ageing wines and spirits. They allow the adjustment of the organoleptic quality and complexity of alcoholic beverages aged within them to take place (Caldeira *et al.*, 2008; Fernández de Simón *et al.*, 2014). Barrel ageing is therefore an integral part of the production of good-quality wines and spirits. Ageing in oak barrels is part of the specifications of the Cognac controlled designation of origin (AOC Cognac). This is a French spirit produced exclusively in the Nouvelle-Aquitaine region, and more precisely in the Cognac area, made from double-distilled white wines (Ugni blanc is the principal grape variety). A freshly distilled eau-de-vie has a high ethanol concentration, ranging from 70 to 72 % (v/v) for Cognac (Vivas *et al.*, 2020), and is very rich in volatile compounds. It is the contact with the wood, which can last more than two years, that will enrich the spirits with phenolic compounds, such as phenolic aldehydes, phenolic acids, coumarins, lignans, phenylketones or even hydrolysable tannins (Canas, 2017). Oak wood affects colour, structure and organoleptic complexity, and the different steps in the barrel-making process, such as seasoning and toasting, will influence these quality attributes in both wines and spirits (Cadahía *et al.*, 2003; Canas *et al.*, 2007; De Rosso *et al.*, 2009; Matricardi and Waterhouse, 1999). Barrel toasting is probably the most important step in barrel manufacturing, as it influences oak wood chemical composition, which is then likely to migrate into the wine and spirits during ageing, affecting their organoleptic properties. Oak toasting leads to wood compound thermodegradation, which in turn leads to the release of new volatile and non-volatile compounds (Cadahía *et al.*, 2001, Cadahía *et al.*, 2003; Chira *et al.*, 2020; Jordão *et al.*, 2006; Mosedale and Puech, 1998). The impact of toasting on the aromatic profile of Portuguese spirits in contact with wood and on whisky has been studied from a physico-chemical point of view (Caldeira *et al.*, 2002; Caldeira *et al.*, 2006). Snakkers *et al.* (2003) also conducted research into the influence of barrel toasting on Cognac eaux-de-vie using pilot barrels. Untoasted oak wood gave “vegetal” and “heavy” notes, whereas toasted wood gave higher-quality eaux-de-vie with “vanilla” notes. Sensory analyses are commonly performed on wines and spirits to characterise them or to study the organoleptic impact of compounds present in these matrices. In order to characterise wines and spirits in this way, the sensory profile is the most commonly used test. However, before building the sensory profile, it is important to assess the overall similarities or differences between the samples, for which a sorting task is performed. It is also necessary to train the panel on previously selected descriptors which will represent the sensory space of the studied samples, as well as on how to

score using the descriptor intensity scale, and thereby create a sensory profile for the studied samples. Ranking tests can also be used to rank samples according to an overall criterion such as quality or typicality. However, from a sensory point of view, no studies have yet been conducted which focus on the influence of barrel toasting on Cognac eaux-de-vie. Therefore, the aim of our study was to perform a sensory characterisation of Cognac eaux-de-vie aged for 12 months in barrels which had been subjected to different toasting processes. This ageing duration was a limitation of the study; however, it should be noted that this initial preliminary study was performed for one year in order to determine the impacts of barrel toasting and with view to conducting further long-term studies which will align with the industrial practice of three years. In order to represent all the basic toasts found in cooperage, eight types were chosen.

To achieve our objectives, discriminative tests consisting of a free sorting task were carried out in a first step to show the differences between the samples, then a conventional sensory profile was defined by a descriptive method. To judge the quality of the eaux-de vie, a rank order test was used. All these tests are commonly used for the sensory analysis of wines or spirits (Lawless and Heymann, 2010; N. Martin and de Revel, 2000).

MATERIALS AND METHODS

1. Eaux-de-vie

Eight Cognac eaux-de-vie aged for 12 months in contact with barrels subjected to different toasts were studied. In all cases, the same young eau-de-vie from double-distilled Grande Champagne terroir (the grape variety was ugni blanc) from the 2020 vintage was placed in new barrels representing eight different toasting processes consisting of four different temperatures (Light, Medium, Medium plus and High) and two different durations (Normal and Slow). The different toasting processes are given in Table 1; the temperature which was recorded throughout each toasting process is given as integration of the area under the temperature curve over the entire toasting period note total °C/min. The barrels used were all 400 L, were made of French oak from two geographical origins, the Indre and the Dordogne, and were a mixture of medium and coarse grain. These barrels were in a cellar where the barrels were stacked vertically (with the bung hole on the top). The barrels are made like this in order respect the contact between the wood and the eau-de-vie and provide the same exchanges as when the barrel is horizontal. The eaux-de-vie have an alcohol content of 60 % (v/v) during ageing, but they are marketed at 40 % (v/v). For this reason, the sensory analyses were carried out at both alcohol levels. To bring the eaux-de-vie down to 40 % (v/v), osmosed water was used.

2. Sensory analysis

2.1. General conditions

The samples were evaluated at room temperature (20 °C) in covered black ISO glasses containing 12 mL of liquid

TABLE 1. Description of the types of toast studied.

Toast	Notation	Sum °C min
Light toast normal	LTN	3560
Light toast slow	LTS	5036
Medium toast normal	MTN	4566
Medium toast slow	MTS	5134
Medium toast plus normal	MT+N	5088
Medium toast plus slow	MT+S	6015
High toast normal	HTN	6892
High toast slow	HTS	7320

and coded with random three-digit numbers. Sessions were conducted at individual tasting stations.

2.2. Panel

The panel comprised the members of the tasting committee of the Courvoisier Cognac Company. Fourteen professionals (6 women and 8 men) aged between 27 and 63 years old (median age: 46.5 years old) tasted the cognac eaux-de-vie. They were selected for their availability and their interest and skills in tasting eaux-de-vie, all carrying out daily eaux-de-vie tasting on a professional basis. In addition, they have all been officially trained in tasting Cognac eaux-de-vie by an approved training organisation called ORECO and therefore have the same level of sensory expertise. The participants were not given any information about the study prior to it, and they therefore did not know which type of eau-de-vie they would be evaluating. All the panellists provided written consent to perform the tasting.

2.3. Free sorting task

Each panellist participated in four 45-min sessions. First, the panel was asked to smell 8 eaux-de-vie in random order. Then they were asked to group the samples according to their similarities, forming at least two groups. They were asked to smell the samples as many times as they wished, and in any order they wanted (Campo *et al.*, 2008). They were not asked to explain their choice regarding the groups formed. After the olfactory session, a second session of the sorting task related to gustatory and retronasal perception was carried out. These two exercises were performed on samples at 60 % (v/v) and 40 % (v/v) which were subject to four sorting sessions.

2.4. Descriptive testing: Conventional sensory profile

Descriptive testing was performed with a sensory profile (NF ISO 13299:2016) in three steps: i) a free descriptor generation was performed (NF ISO 11035:1994) to best characterise the sensory space of the samples, ii) the panel received training on the generated descriptors (NF ISO 8586:2012) and the scale used (NF ISO 4121:2003), and iii) the eaux-de-vie was evaluated. All the tasting sessions took place over a period of one and a half months.

2.4.1. Free descriptor generation

A free descriptor generation was held in a single 1-hour session on the eight eaux-de-vie with an alcohol level of 60 % (v/v). The panel was asked to taste all the eaux-de-vie samples from an orthonasal, gustatory and retronasal point of view in a specific pre-determined order. Each panellist could smell and taste the samples several times, and was asked to generate a list of 10 descriptors to differentiate between each of the eaux-de-vies. The panel members were also asked to provide at least 4 taste descriptors out of the 10 descriptors. At the end of the session, a discussion took place between the members of the panel in order to choose the descriptors to be used for the rest of the study; as a result, of the 140 generated descriptors, twelve were retained.

2.4.2. Training testing method

References were defined for the twelve generated descriptors. Chemical compounds were used as references when common descriptors were involved. When it was difficult to associate a descriptor with a compound, macerates were made, such as for “tobacco” notes for example, with cigars being placed in a 60 % hydroalcoholic solution and agitated for 48 h. Table 2 shows the references used for each descriptor, as well as the concentration used. The concentrations reported in the table correspond to the highest concentration presented during the training sessions, so that everyone could memorise the different descriptors.

The panel was trained (NF ISO 8586:2012) on the 12 descriptors of the study and on use of the scale (NF ISO 4121:2003). The training sessions were based on those described in Pelonnier-Magimel *et al.* (2020), but Session 3 on intensity assessment was repeated in order to familiarise the panel with the use of the continuous scale. Panel training was conducted in six 1-hour sessions spread over three weeks.

2.4.3. Eaux-de-vie evaluation

2.4.3.1. Sensory profile

The 16 samples (8 eaux-de-vie for each alcohol level) were divided into two sessions, with 8 samples at 60 % alcohol level (v/v) in the first session and 8 eaux-de-vie at 40 % (v/v) in the second. The samples were presented simultaneously

TABLE 2. List of terms used for descriptive measures and reference standards presented during the training period.

Descriptors	Composition for recognition session	Model solution for intensity session
Vanilla	Vanillin (Sigma Aldrich)	0.4 g/L in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Dry wood	Untoasted wood chips (Nadalié OAK ADD INS)	Untoasted wood chips (100 g/L) in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Green wood	Stave sawdust being dried (Courvoisier wood yard)	Stave sawdust being dried (100 g/L) in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Brioche	sliced brioche, original recette (from the bakery ‘La Fourmée dorée’)	A piece of gâche in black glass covered with aluminum foil
Leather	“p-cresol” (Sigma Aldrich)	5 mg/L in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Toasted	Furfurylthiol (Sigma Aldrich)	0.75 µg/L in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Tobacco	Cigars (Neos Country)	1.5 cigars in 1L of hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Freshness	Hydroalcoholic solution frozen	hydroalcoholic solution (60 % v/v) placed in freezer, fridge and room temperature
Astringency	Aluminum sulfate (Fischer Scientific)	0.5 g/L in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Bitterness	Quinine sulfate (Merck)	20 mg/L in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Sweetness	1/3 Glucose / 2/3 Fructose (Sigma Aldrich)	10 g/L in hydroalcoholic solution (60 % v/v)
Heat	Grain alcohol (96.1 % v/v)	Grain alcohol (96.1 % v/v) diluted with osmosis water

* The concentrations used met exposure recommendations.

in a Latin-square arrangement. For the olfactory evaluation, the descriptors were smelt one by one so that the panellist could compare the eaux-de-vie with each other for each descriptor. The 8 olfactory descriptors were smelt in random order so as not to create any bias by possible sensory fatigue. For the taste evaluation, the members of the panel received 8 eaux-de-vie samples in random order, rating each in terms of intensity of the four taste descriptors. This avoided excessive sensory fatigue, which is likely to occur with such high alcohol content. A continuous ten-centimetre scale from “not intense” to “very intense” was used to rate the intensity of each descriptor (NF ISO 4121: 2003).

2.4.3.2. Ranking test

A final session consisting of a ranking test (ISO 8587: 2006/AMD 1:2013) was carried out to rank the eaux-de-vie from the lowest to the highest quality. In this session, the 8 eaux-de-vie at both alcohol levels were smelt and tasted (total of 16 samples), with a 15-minute gap between the two groups of samples. The panel was asked to rank the eaux-de-vie from lowest to highest olfactory, gustatory and overall quality in that order. The panel followed the instructions for the order of smelling and tasting of the samples, which was random for all panellists (ISO 8587: 2006/AMD 1:2013).

3. Statistical treatment

For the free sorting task, multidimensional scaling (MDS) and hierarchical clustering were used. In order to carry out the MDS analysis, a proximity matrix was made from a contingency table, allowing the Euclidean distances between the eaux-de-vie samples to be obtained. Hierarchical clustering was used to obtain a dendrogram that defined the formed groups of eaux-de-vie according to their similarities.

For the descriptors that were generated freely, a citation frequency was calculated. To study the consensus between panellists during the training sessions and sensory profile, principal component analysis (PCA) was performed, completed by two-way ANOVAs (panellist and sample) or a two-way Friedman non-parametric test with a Nemenyi test as post-hoc. To analyse the eaux-de-vie during the sensory profile, ANOVA was used to analyse the toasting duration-temperature interaction, then parametric (one-way ANOVA with a post-hoc Duncan test) and non-parametric (Kruskal Wallis and Pairwise-Wilcoxon as post-hoc) tests were used to determine the effects of overall toast, toasting temperature and toasting duration. Finally, the Friedman test was applied for the ranking. Each panellist attributed a value

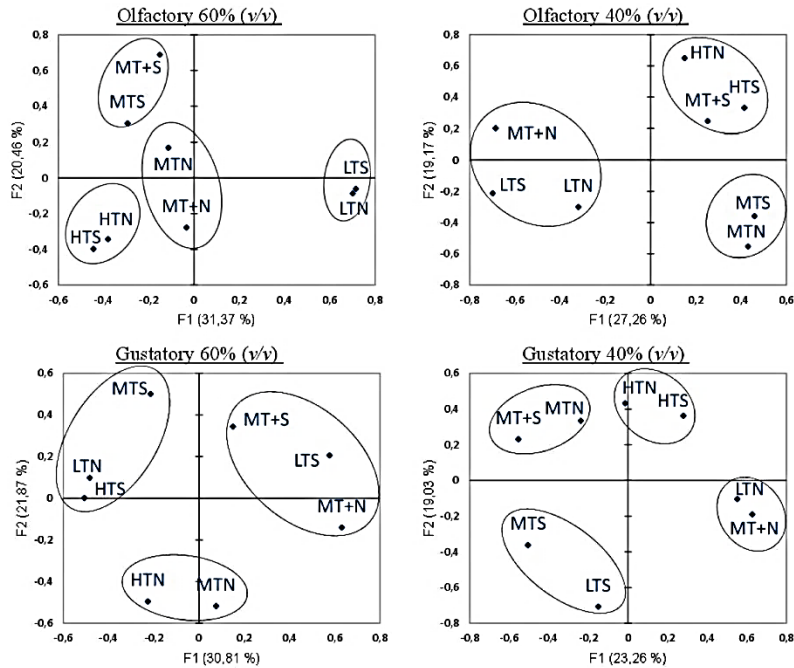


FIGURE 1. MDS plane obtained from the olfactory sorting tasks and the gustatory sorting tasks. The ellipses include the eaux-de-vie belonging to the same cluster according to the HCA.

of between 1 and 8 to each sample (1 for samples designated as the lowest quality and 8 for the highest). The sum of the ranks was obtained for each sample, and the χ^2 table was used to determine the test significance.

All statistical treatments, except multidimensional scaling (MDS) and hierarchical clustering, were performed using Rstudio software (Rstudio Inc., Boston, USA, 2018). The XLSTAT software (Addinsoft, Paris, France, 2018) was used for MDS and hierarchical clustering. All statistical treatments were performed using Rstudio software (Rstudio Inc., Boston, USA, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Free sorting task

Figure 1 shows four MDS maps representing the similarity matrix obtained from the sensory sorting task in the olfactory and gustatory sessions for both alcohol levels (60 % and 40 % (v/v)). According to the hierarchical cluster analysis (HCA), the panellists recognised three to four main groups of eaux-de-vie. The results of the olfactory sorting task show that similar groups formed, whether at 60 % (v/v) or 40 % (v/v). At 60 % (v/v), the two high toasts HTN and HTS formed a single group and were perfectly distinct from the light toasts LTN and LTS, which formed a group as well. Differences were found between these toasts and the medium toasts, as the latter were also classified into two different groups. Similarities were found between the medium toast (MT and MT+) samples with the same toasting duration, because differences were observed between the medium slow (S) toast and medium normal (N) toast. In contrast, no olfactory dissimilarity seems to have been found between the

eaux-de-vies aged in medium and medium plus toasted barrels. The results at 40 % (v/v) were similar: differences were found between the two light toasts and the two high toasts, which were classified into different groups. However, one difference was that the samples of the two medium toasts were also classified in a different group, while the medium plus toasts were dissimilar. The MT+N toast would appear to be similar in olfactory terms to the light toast samples, and the MT+S toast to the high toasts. As far as the gustatory aspect is concerned, differences between the different barrel toasts were less pronounced, except for the high toasts which formed a group at 40 % (v/v) and differed from the other types of toasting. These results show that aged Cognac eaux-de-vie can be distinguished by type of toasting of their barrel. Indeed, from an olfactory point of view, light and high toasting of barrels would result in different eaux-de-vie, which are also more or less well differentiated from eaux-de-vie aged in barrels that have undergone medium or medium plus toasting. In terms of taste, the alcohol content seems to influence the differences found between the eaux-de-vie, and the differentiation according to the type of toasting is less marked. However, it would seem that high toasting results in different taste characteristics in these 40 % (v/v) eaux-de-vie. The next step in the study was to characterise these eaux-de-vie at both alcohol levels, since differences were found in both cases.

2. Descriptor selection and training

In order to describe the sensory space of the eaux-de-vie being studied, each panellist generated a list of ten descriptors. All the terms were listed, and the number of times the same descriptor was cited was counted. Terms that were hedonic, redundant, undefinable, or referred to the intensity

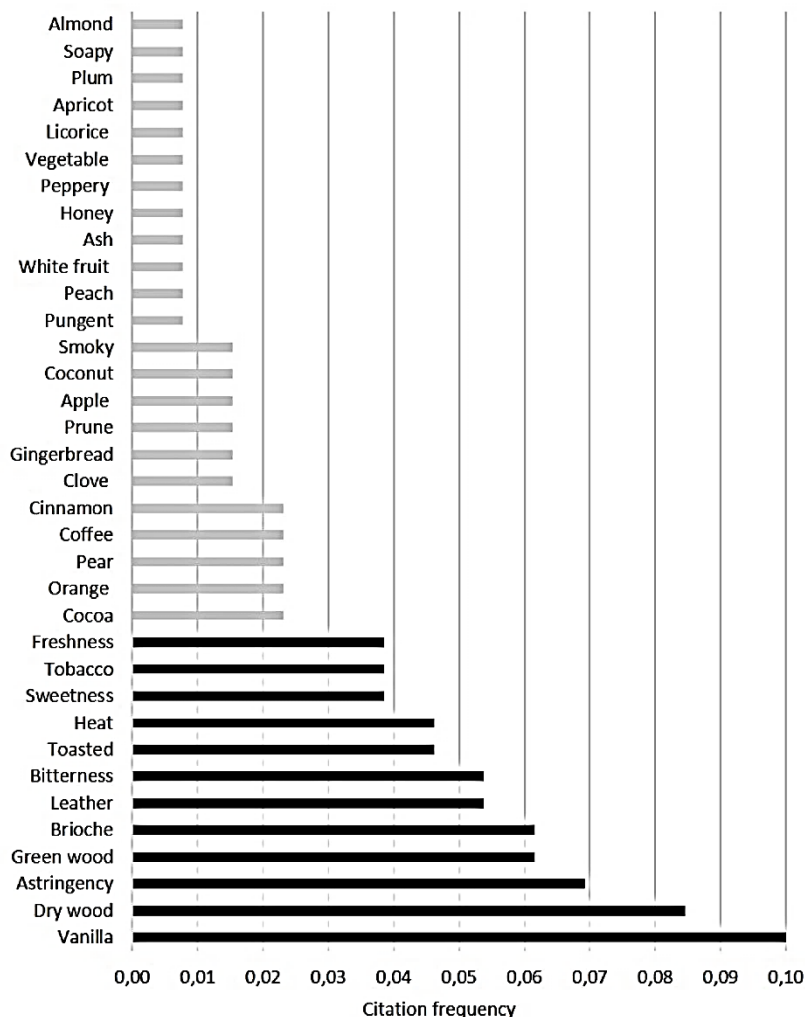


FIGURE 2. Eaux-de-vie descriptor citation frequency.

of a descriptor were eliminated. Out of the 140 descriptors listed for 14 panellists, ten were eliminated for the reasons mentioned above. For the remaining 130 descriptors, the frequency of citation was calculated. A descriptor cited 4.66 times or more was considered relevant. This value corresponds to a descriptor cited by at least 1/3 of the panel, giving a citation frequency value of 0.04 (Pelonnier-Magimel *et al.*, 2020). The results of the citation frequencies for the descriptors generated by the panel are shown in Figure 2. As a result, 12 terms were considered to discriminate between the samples: 8 olfactory descriptors, including the terms “vanilla”, “dry wood”, “green wood”, “brioche”, “leather”, “toasted”, “tobacco” and “freshness”; and 4 gustatory descriptors including “astringency”, “bitterness”, “heat” and “sweetness”.

A discussion with the judges on the list of descriptors helped to define the different terms and agree on their relevance. “Vanilla” was described as vanillin, and “brioche” was chosen to represent the brioche and pastry aspect of an eau-de-vie. “Leather” was associated to the leathery smell of a belt, but not with animal leather or horsehide which are characteristic of the ethylphenols often found in wine. Two types of wood

were described: “dry wood” and “green wood”. For the panel, “dry wood” represented untoasted wood, while “green wood” is more like a defect, characterized by the plant-like aspect of wet wood, which smells like a plank. The “heat” descriptor was considered by some to be due to the burning sensation of alcohol. However, a discussion among the whole panel revealed that different intensities of this descriptor were perceived in samples of the same alcohol level. It was therefore decided to keep this descriptor, which can vary in intensity due to perceptual interactions.

It was also through discussion with the panel that the references associated with the descriptors were chosen. For descriptors associated with commercial molecules, chemical reference standards were used. For “vanilla”, vanillin, for “leather”, *p*-cresol and for “toasted”, furfurylthiol. *p*-crésol was chosen because in low concentrations it does not have the animal leather smell that can be found with ethylphenols, but corresponds more to the leathery smell found in brandies. As there was no reference for the thresholds of the chemical compounds in an alcoholic solution at 60 % (v/v), it was necessary to start from the values already found in a hydroalcoholic wine solution and adapt them.

For the odorous compounds to be perceived at 60 % (v/v) it was necessary to multiply the threshold by 100 or 1000. Previous studies on red wine have described the preparation of astringent and bitter solutions (Chira *et al.*, 2011). For astringency, aluminium sulphate was used, and for bitterness quinine sulphate. References for the other descriptors were made from macerates in a hydroalcoholic solution of eau-de-vie 60 % (v/v) (Table 1).

Training was mainly carried out for 60 % (v/v) eaux-de-vie samples, as this was considered more complicated than training for 40 % (v/v) samples; it was thought that the panel would do better in the different sessions if they had been trained for the higher alcohol level. The training worked well, because in the 60 % (v/v) test profile, each sample of eau-de-vie was tasted twice, and the panel gave the same score for all descriptors. In addition, a consensus was reached by the members of the panel regarding the different descriptors, except in the case of “brioche”. However, the descriptors “dry wood” and “green wood” were scored in the same way for the different samples. After discussion with the members of the panel, it turned out that differentiating between the two descriptors was too complicated, as the two wood macerates did not allow a distinction to be made. The “green wood” descriptor was therefore removed from the list of descriptors, as panel agreed that the “dry wood” descriptor was more important. The reference associated with the “brioche” descriptor was found to be a poor choice. Maltol as a chemical compound had been tested at different concentrations in order to find this “brioche” smell, but even at very low concentrations, there was a strong note of caramel which did not produce a close enough resemblance to the “brioche” note. In the absence of a chemical molecule that would give the brioche character found in an eau-de-vie, the members of the panel were trained on this descriptor using a piece of brioche wrapped in aluminium foil at the bottom of black glasses. Intensity tests for this descriptor could not be carried out.

3. Impact of barrel toasting on eaux-de-vie perception

3.1. Sensory profile

The sensory profiles were carried out on eaux-de-vie that had been aged for one year in barrels subjected to different toasting processes. They were carried out on samples with two alcohol levels, 60 % (v/v) and 40 % (v/v). The sensory profile on 60 % (v/v) samples did not give conclusive results, unlike that on 40 % (v/v) samples. A consensus was not reached by the panel regarding the PCAs at the higher alcohol level of 60 % (v/v); for example, for the “sweetness” descriptor at 60 % (v/v), seven panellists were in the positive part of the first axis of Figure 3 and six in the negative part. In addition, several of the panellists in the negative part of dimension 1 showed a high contribution, indicating that they influenced the consensus negatively compared to the other panellists. In contrast, at 40 % (v/v), nine panellists were in the positive part of axis one, the majority of them contributing strongly to the rating of the “sweetness” descriptor, while only four were in the negative part, with only one contributing negatively to the rating of the descriptor. The other three panellists did not contribute, as they may not have used the scale in its entirety, which could prevent significant differences being found between the samples.

Only 13 panellists were represented on the PCAs instead of 14, as the panel member with the highest negative impact was removed for the entire treatment for both 40 % (v/v) and 60 % (v/v) samples. Although the removal of this panellist from the treatment did not improve consensus within the panel, he gave an opposite score for a descriptor to that of the majority of the panel. His strong negative impact helped to reduce the marked differences between the samples.

The fact that the sensory profile of 60 % (v/v) samples did not give conclusive results regarding the characterisation of the eaux-de-vie, due to the lack of consensus among the panel members, may be due to sensory fatigue arising from

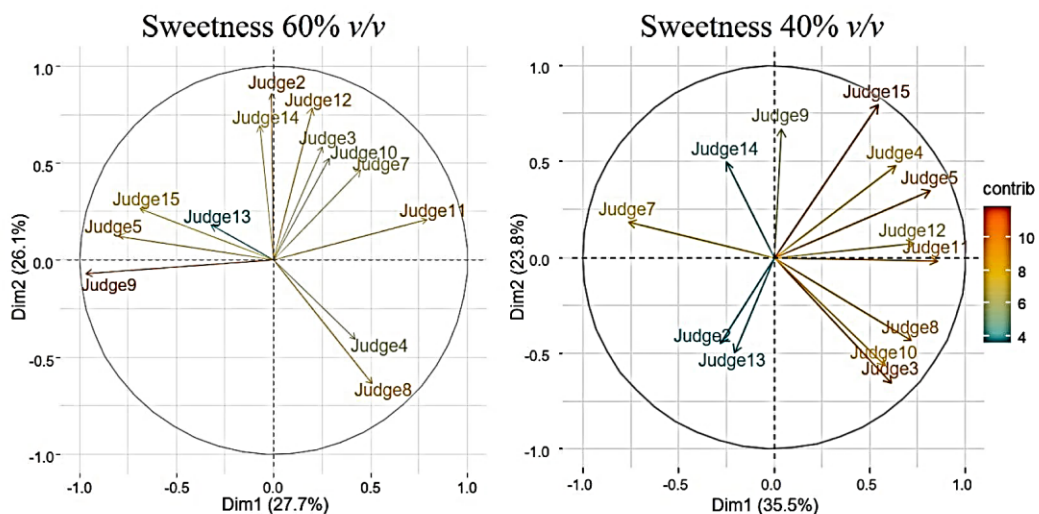


FIGURE 3. Example of PCA correlation circles for sweetness at 60 % v/v and 40 % v/v with respectively no consensus and consensus between judges in the final sensory profile.

the high alcohol content. However, in the 60 % (v/v) test profile (the last training session) showed that a consensus was reached on the different descriptors among the panellists, unlike in the final profile. This could be explained by the fact that during training, the descriptors added in the eaux-de-vie were in high concentrations, and therefore they were easily recognised.

Regarding the results of the sensory profile on 40 % (v/v) eaux-de-vie consensus was reached by the panel on seven of the eleven descriptors: “leather”, “freshness”, “tobacco”, “toasted”, “dry wood”, “sweetness” and “heat”. No consensus was reached for the “astringency”, “bitterness”, “brioche” and “vanilla” descriptors. Training on these descriptors was complicated. Reaching a consensus about these descriptors has been more difficult. Moreover, eau-de-vie astringency is much less marked than that commonly found in a red wine. Ethanol decreases the sensation of astringency via its intervention in hydrophobic interactions between proteins and tannins (Fontoin *et al.*, 2008; Gawel, 1998). Bitterness is a complex descriptor, as sensitivity varies widely from one person to another (Roudnitzky *et al.*, 2015). Some people are very sensitive to it, while others do not perceive it at all, especially those used to drink a lot of coffee and other bitter drinks. In addition, a high alcohol content can itself cause a bitter taste (Fischer and Noble, 1994; Martin and Pangborn, 1970); it was therefore difficult for the panel to rate this descriptor. A study by Cretin *et al.* (2018) has also showed that ethanol is involved indirectly in the perceived bitterness of white wine. As for the “brioche” and “vanilla” olfactory descriptors, because the young eaux-de-vie spent only one year in oak barrels, it follows that these descriptors should be more difficult to detect than the other olfactory descriptors.

In order to study the impact of barrel toast on eaux-de-vie, the seven consensus descriptors were used. First, the ANOVA of the duration~temperature interaction was carried out for each of the seven consequential descriptors. If the interaction was significant (p -value < 0.05) then the toasting duration and temperature factors could not be treated independently of each other. On the other hand, if the p -value of the interaction was not significant, then the two factors could be treated independently. Of the seven descriptors, “heat” was the only one to show significant interaction, thus toasting temperature and duration could not be treated independently. As a result, the MTS and MT+N toasts were significantly different from the MT+S, HTN and HTS toasts. The LTN, LTS and MTN toasts showed no significant differences. It seems that the “heat” descriptor was more intense for the high than the medium toasts (Figure 4 A). For the duration of toasting, only the descriptor “freshness” was significantly affected by duration. Normal toasting (N) of the barrel produced a more intense freshness than slower toasting (S) (Figure 4 B).

In general, toasting temperature had a greater impact than temperature duration. Out of the seven consensus descriptors, five were significantly impacted by the toasting temperature of the barrel: “dry wood”, “leather”, “tobacco”, “toasted” and “sweetness” (Figure 5). Toasting temperature was therefore the main factor to discriminate and characterise the different eaux-de-vie. The eaux-de-vie aged in highly toasted barrels were significantly more intense in terms of “dry wood”, “leather”, “tobacco” and “toasted” notes compared to the eaux-de-vie in lightly toasted barrels. They were also significantly more intense in “dry wood” and “tobacco” notes than the eaux-de-vie in medium and medium+ toasted barrels. However, the opposite was true for the “sweetness” descriptor: an eau-de-vie aged in a lightly toasted barrel was characterised with a higher “sweetness” intensity than the eaux-de-vie aged in medium plus and highly toasted barrels.

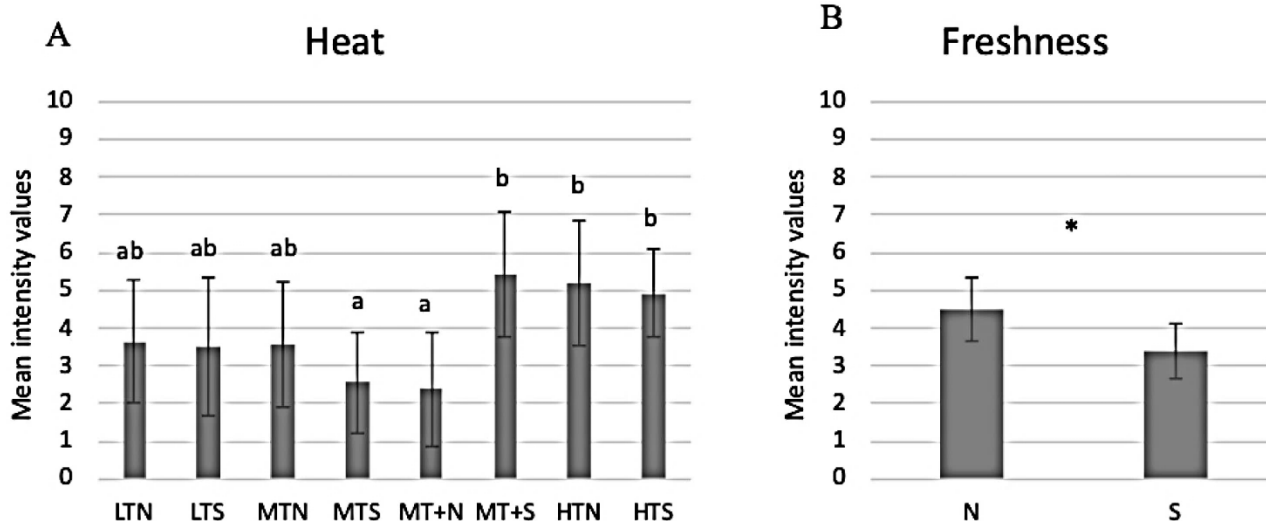


FIGURE 4. “Heat” descriptor intensity in eaux-de-vie at 40 % (v/v) with different barrel toasts (A) and “Freshness” intensity in eaux-de-vie at 40 % (v/v) with different barrel toasting durations (B). Error bar represents the confidence interval with a threshold of 0.05.

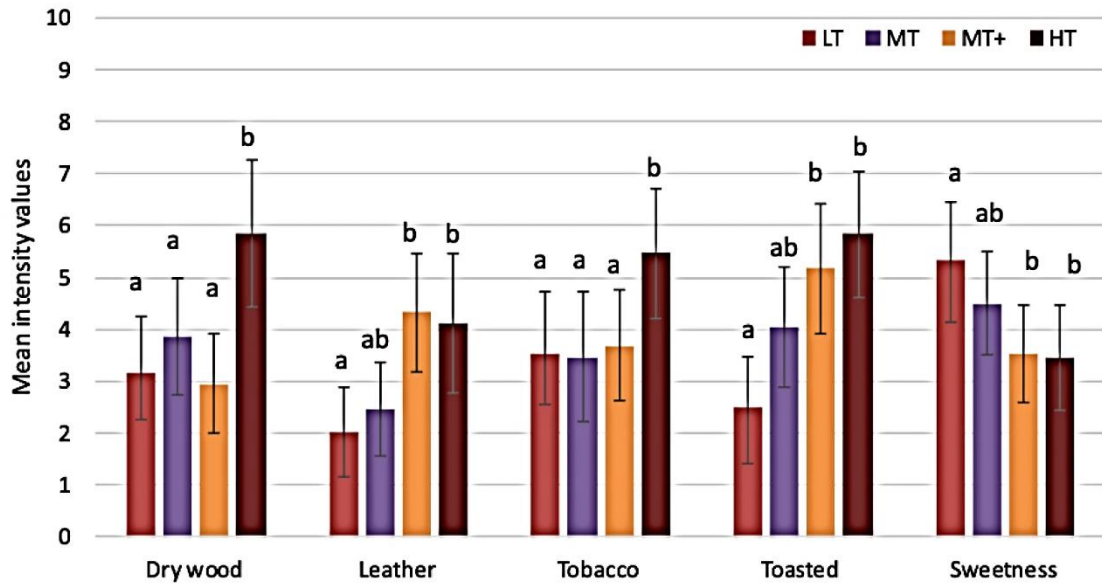


FIGURE 5. Descriptor intensity in eaux-de-vie at 40 % (v/v) with different barrel toasting temperatures (LT: Light toast, MT: Medium toast, MT+: Medium toast +, and HT: High toast). Error bar represents the confidence interval with a threshold of 0.05.

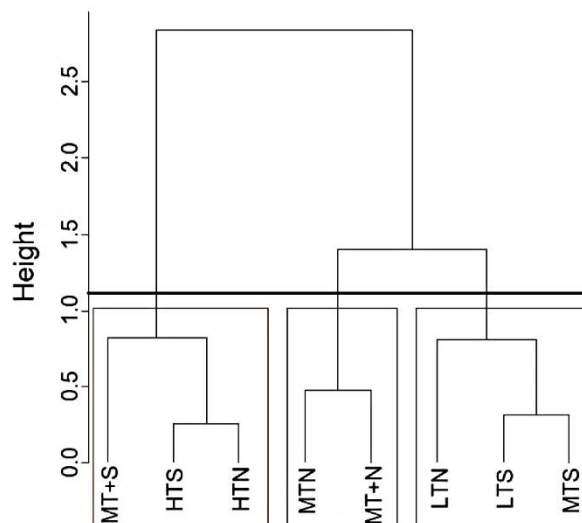


FIGURE 6. Clustering of eaux-de-vie based on the consensus descriptors for the eight products.

Normally, the more intense the toast, the more the taste of sweetness increases (Chira and Teissedre, 2013). Under the conditions of this experiment, “heat” notes were perceived more intensely in eaux-de-vie from highly toasted barrels, suggesting that this sensation of heating could influence the perception of sweetness. Studies have shown that high alcohol levels contribute to the sensation of “heating” or “hotness” (Gawel *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2008; King *et al.*, 2013) and alter the perception of sweetness (Zamora *et al.*, 2006). It is therefore possible for eaux-de-vie in highly toasted barrels to give off an intense “heat” sensation, thereby reducing the perception of sweetness. Thus, a higher intensity of the “sweetness” descriptor was perceived in eaux-de-vie aged in light-toast barrels.

Clustering was performed to classify the eaux-de-vie according to their sensorial proximity. Figure 6 shows that three groups of eaux-de-vie were formed, making it possible to distinguish between the eaux-de-vie aged in casks depending on their toast. The sensory profile made it possible to characterise the eaux-de-vie and confirm the results obtained during the sorting task. The eaux-de-vie aged in high toast barrels are part of the same sensory space as those aged in a MT+S barrel. This group had already been formed during the olfactory sorting test at the same alcohol level (40 % v/v). In contrast, a second group consisted of eaux-de-vie aged in lightly toasted barrels, as well as eau-de-vie in MTS barrels. Finally, the third group was made up of eaux-de-vie aged in barrels with two medium toasts, MTN

TABLE 3. Ranking of perceived quality in eaux-de-vie after 12 months of ageing in barrels subjected to different toasts.

Test	Eaux-de-vie and sum of ranks								F ^a	Results ^b
	HTS	HTN	MT+S	LTS	MT+N	MTS	MTN	LTN		
Olfactory	87	78	71	66	64	57	53	28	26.6	Significant at 0.1 %
	a	ab	ab	ab	ab	b	c	c		
Gustatory	63	85	75	72	73	58	37	41	23.7	Significant at 0.5 %
	ab	a	a	a	a	ab	b	b		
Global	81	76	73	72	67	59	42	34	23.6	Significant at 0.5 %
	a	a	a	a	ab	bc	bc	c		

^a F was calculated as described in ISO 8587: 2006 for the Friedman test. $F = (12 \times \sum_{p=1}^p R_i^2) / (j \times p \times (p + 1)) - 3 \times j \times (p + 1)$ where j represents the number of judges, p represents the number of products and R_i represents the sum of the ranks for the modality i .

^b With eight products, the test was significant at 0.5 % when $F > 21.9$ and at 0.1 % when $F > 26.1$.

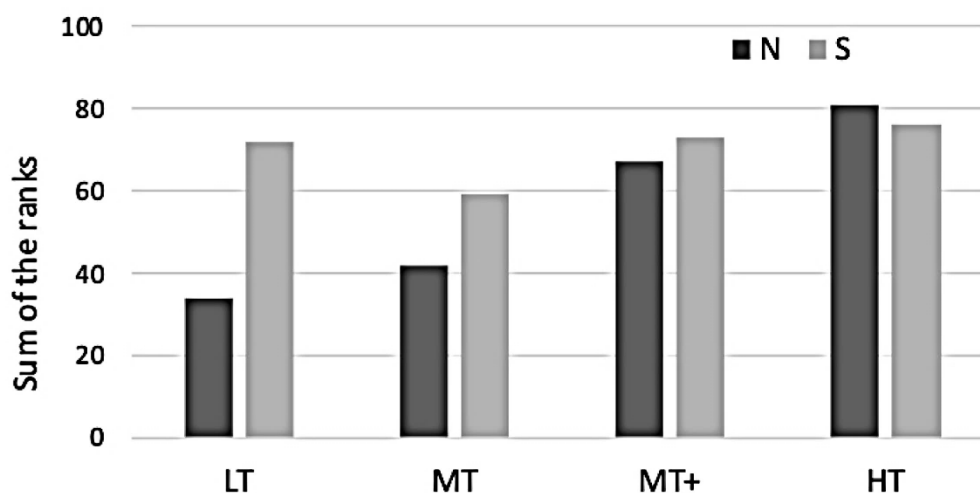
and MT+N. As there are no previous studies on the impact of toasting on cognac eaux-de-vie from a sensory point of view, these results cannot be compared with other studies.

3.2. Ranking test

Once the eaux-de-vie had undergone sensory characterisation, a ranking test was carried out in order to classify them according to each of their olfactory, gustatory and overall quality, and thus determine the impact of the choice of barrel toast on cognac eau-de-vie quality. This test was performed for both alcohol contents, 60 % (v/v) and 40 % (v/v).

Each taster assigned 1 point to the lowest-quality eau-de-vie and 8 points to the highest. The sum of the ranks was calculated for each modality for each ranking. The statistical analysis showed no significant results at 60 % (v/v) for the olfactory, gustatory or even overall quality. Not enough real differences were found between the eaux-de-vie to classify them by quality. This result is consistent with those for the sensory profile, in which no consensus was reached by the judges when tasting the 60 % (v/v) eaux-de-vie samples.

Regarding the results related to the 40 % (v/v) alcohol level, the statistical analysis was significant at 0.1 % when classifying the eaux-de-vie according to quality from an olfactory point of view (Table 3); this means that the tasters were able to distinguish different eaux-de-vie qualities depending on the barrel toast. Moreover, the highest sum of ranks was observed for the eaux-de-vie aged with HTS and HTN barrels, followed by MT+S, LTS, MT+N barrels, and then the MTS, MTN and LTN barrels. These results are in agreement with those of the olfactory sorting task and of the sensory profile, as eaux-de-vie samples from HTN, HTS and MT+S were of the highest quality. The results differ slightly for the light and medium toasts, as MTN and LTN are in the same group, which was not the case in the previous tests. Nevertheless, it is possible for two samples to be different but of equal quality. Furthermore, even though the ranking test shows significant results at the 0.1 % level, it does not allow a clear differentiation between the different eaux-de-vie (see letters showing the differences in Table 3). The overall ranking test shows the same results as the olfactory test, as the sum of ranks classifies the eaux-de-

**FIGURE 7.** Results of the overall ranking of the 40 % (v/v) eaux-de-vie according to the toasting duration (Normal or Slow) for each barrel toasting temperature (LT, MT, MT+ and HT).

vie in the same way. The only difference is the significance level of 0.5 %. Similarly, the eaux-de-vie are not clearly differentiated as four samples are in the “a” group, one in the “ab” group, two in the “bc” group and one in the “c” group. The gustatory ranking also shows a significant difference of 0.5 % between the products (Table 3), but the ranking differs. Unlike the results of the taste sorting task and the sensory profile, the two high toasts showed a very different rank sum and did not differ from one of the weak LTS barrel toasts. The eau-de-vie aged in the HTN barrel had the highest rank sum, but did not differ from the eaux-de-vie corresponding to the HTS, MT+S, LTS MT+N and MTS barrels. On the other hand, the MTN and LTN toasts appear to cause a significant reduction in quality in the associated eaux-de-vie.

Figure 7 shows the results of the overall ranking test for the 40 % (v/v) eaux-de-vie. The sum of the ranks was plotted for each toasting duration against the toasting temperature of the barrel. It seems that for a slow barrel toast, the eaux-de-vie are not sorted qualitatively according to the toasting temperature, as the light toast gives higher quality than the medium toast, but to a lesser extent than the MT+ and HT toasts. On the other hand, it is interesting to note that for a normal toasting duration, the eaux-de-vie are sorted from the lowest to highest quality according to the toasting temperature, which goes from light to high in ascending order. It would therefore be possible to differentiate eaux-de-vie according to the toasting temperature for the same barrel toasting duration. Light toasting temperatures showed the lowest quality and high toasting temperatures the best quality.

CONCLUSIONS

The objective of this study was to compare and sensorially characterise Cognac eaux-de-vie aged in barrels subjected to different toasts. It showed the difficulty in tasting at a high alcohol level, as even with training, it was too difficult to study eaux-de-vie sensorially at the alcohol level found during ageing (60 % v/v). On the other hand, the generation of descriptors from adapted references in order to characterise the samples, as well as the training of the panel were essential and enabled results to be obtained from the various sensory tests on eaux-de-vie with the commercial cognac alcohol level (40 % v/v).

The results showed that the eaux-de-vie are strongly impacted by the toast of the barrel during the first year of ageing and it is possible to distinguish between them according to the toast used. Light barrel toasting results in significantly different eaux-de-vie from those aged in high-toast barrels. The latter tends to result in high-quality eaux-de-vie. This study is a first step in the characterisation of cognac eaux-de-vie aged in barrels made with different toasts and can lead to practical recommendations in order to obtain the ideal toast temperatures that give the best olfactory and gustatory profiles in eaux-de-vie. However, it would be interesting to complete this study with a longer ageing period such as 3 years, which would correspond to the minimum

ageing period for the Cognac eau-de-vie appellation. A new generation of descriptors should be developed in order to compare the terms generated at 1 year and 3 years of ageing, and the training of panellists should be adapted to advanced products. In addition, a generation of descriptors at both alcohol levels might be useful for perceiving odours that may have been hidden by the 60 % alcohol. Given the substantial difficulties encountered when tasting the eaux-de-vie because of their high alcohol content, longer training sessions with other natural references would need to be carried out in the future to gain a more in-depth understanding of the organoleptic impact of toasting on Cognac eaux-de-vie.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the companies, Courvoisier and Suntory for their financial support, and Sophie Tempere for helping with the sensory analysis. The authors would also like to thank the Jarnac cooerage for the production of the barrels used in this study, and the Courvoisier Tasting Committee for their participation in this study.

REFERENCES

- Cadahía, E., Fernández de Simón, B. & Jalocha, J. (2003). Volatile Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods after Natural Seasoning and Toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), 59235932. <https://doi.org/10.1021/jf0302456>
- Cadahía, E., Muñoz, L., Fernández de Simón, B. & García-Vallejo, M. C. (2001). Changes in Low Molecular Weight Phenolic Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 17901798. <https://doi.org/10.1021/jf0006168>
- Caldeira, I., Belchior, A. P., Climaco, M. C. & Bruno de Sousa, R. (2002). Aroma profile of Portuguese brandies aged in chestnut and oak woods. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 5562. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01522-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01522-7)
- Caldeira, I., Mateus, A. M. & Belchior, A. P. (2006). Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Analytica Chimica Acta*, 563(1), 264273. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.12.008>
- Caldeira, I., Sousa, R., Belchior, A. & Climaco, M. (2008). A sensory and chemical approach to the aroma of wooden aged Lourinhã wine brandy. *Ciencia e Técnica Vitivinícola*, 23, 97110.
- Campo, E., Do, B. V., Ferreira, V. & Valentin, D. (2008). Aroma properties of young Spanish monovarietal white wines: A study using sorting task, list of terms and frequency of citation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(2), 104115. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00010.x>
- Canas, S. (2017). Phenolic Composition and Related Properties of Aged Wine Spirits: Influence of Barrel Characteristics. A Review. *Beverages*, 3(4), 55. <https://doi.org/10.3390/beverages3040055>
- Canas, S., Belchior, A. P., Falcão, A., Gonçalves, J. A., Spranger, M. I. & Bruno-de-Sousa, R. (2007). Effect of heat treatment on the thermal and chemical modifications of Oak and Chestnut wood used in brandy ageing. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 22(1), 514.
- Chira, K., Anguelli, L., Da Costa, G., Richard, T., Pedrot, E., Jourdes, M. & Teissedre, P.-L. (2020). New C-Glycosidic Ellagitannins Formed upon Oak Wood Toasting, Identification

- and Sensory Evaluation. *Foods*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101477>
- Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M. & Teissedre, P.-L. (2011). Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry*, 126(4), 19711977. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.056>
- Chira, K. & Teissedre, P.-L. (2013). Relation between volatile composition, ellagitannin content and sensory perception of oak wood chips representing different toasting processes. *European Food Research and Technology*, 236(4), 735746. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-1930-0>
- Cretin, B. N., Dubourdieu, D. & Marchal, A. (2018). Influence of ethanol content on sweetness and bitterness perception in dry wines. *LWT*, 87, 6166. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.075>
- De Rosso, M., Cancian, D., Panighel, A., Dalla Vedova, A. & Flamini, R. (2009). Chemical compounds released from five different woods used to make barrels for aging wines and spirits: Volatile compounds and polyphenols. *Wood Science and Technology*, 43(56), 375385. <https://doi.org/10.1007/s00226-008-0211-8>
- Fernández de Simón, B., Martínez, J., Sanz, M., Cadahía, E., Esteruelas, E. & Muñoz, A. M. (2014). Volatile compounds and sensorial characterisation of red wine aged in cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood barrels. *Food Chemistry*, 147, 346356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.158>
- Fischer, U. & Noble, A. C. (1994). The Effect of Ethanol, Catechin Concentration, and pH on Sourness and Bitterness of Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(1), 610.
- Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P.-L. & Glories, Y. (2008). Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference*, 19(3), 286291. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2007.08.004>
- Gawel, R. (1998). Red wine astringency: A review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(2), 7495. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1998.tb00137.x>
- Gawel, R., Sluyter, S. V. & Waters, E. J. (2007). The effects of ethanol and glycerol on the body and other sensory characteristics of Riesling wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13(1), 3845. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2007.tb00070.x>
- Jones, P. R., Gawel, R., Francis, I. L. & Waters, E. J. (2008). The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference*, 19(6), 596607. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.03.005>
- Jordão, A. M., Ricardo-da-Silva, J. M., Laureano, O., Adams, A., Demyttenaere, J., Verhé, R. & De Kimpe, N. (2006). Volatile composition analysis by solid-phase microextraction applied to oak wood used in cooperage (*Quercus pyrenaica* and *Quercus petraea*): Effect of botanical species and toasting process. *Journal of Wood Science*, 52(6), 514521. <https://doi.org/10.1007/s10086-005-0796-6>
- King, E. S., Dunn, R. L. & Heymann, H. (2013). The influence of alcohol on the sensory perception of red wines. *Food Quality and Preference*, 28(1), 235243. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.08.013>
- Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- Martin, N. & de Revel, G. (2000). Sensory evaluation : Scientific bases and oenological application. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 33, 8194.
- Martin, S. & Pangborn, R. M. (1970). Taste interaction of ethyl alcohol with sweet, salty, sour and bitter compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21(12), 653655. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740211213>
- Matricardi, L. & Waterhouse, A. L. (1999). Influence of Toasting Technique on Color and Ellagitannins of Oak Wood in Barrel Making. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 519526.
- Mosedale, J. R. & Puech, J.-L. (1998). Wood maturation of distilled beverages. *Trends in Food Science & Technology*, 95101. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00024-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00024-7)
- Pelonnier-Magimel, E., Windholtz, S., Pomarède, I. M. & Barbe, J.-C. (2020). Sensory characterisation of wines without added sulfites via specific and adapted sensory profile. *OENO One*, 54(4), 671685. <https://doi.org/10.20870/oenone.2020.54.4.3566>
- Roudnitzky, N., Behrens, M., Engel, A., Kohl, S., Thalmann, S., Hübner, S., Lossow, K., Wooding, S. P. & Meyerhof, W. (2015). Receptor polymorphism and genomic structure interact to shape bitter taste perception. *PLoS genetics*, 11(9), e1005530. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005530>
- Snakkers, G., Boulesteix, J.-M., Estréguil, S., Gaschet, J., Lablanquie, O., Faure, A. & Cantagrel, R. (2003). Effect of oak wood heating on cognac spirit matured in new barrel: A pilot study. *OENO One*, 37(4), 243255. <https://doi.org/10.20870/oenone.2003.37.4.960>
- Vivas, N. (2002). *Manuel de tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*. Féret.
- Vivas, N., Vivas de Gaulejac, N., Bourden-Nonier, M.-F., Mouche, C. & Rossy, C. (2020). Extraction of phenolics from new oak casks during spirit maturation: Impact on spirit colour. *Journal of the Institute of Brewing*, 126(1), 8389. <https://doi.org/10.1002/jib.586>
- Zamora, M. C., Goldner, M. C. & Galmarini, M. V. (2006). Sourness-Sweetness Interactions in Different Media: White Wine, Ethanol and Water*. *Journal of Sensory Studies*, 21(6), 601611. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2006.00085.x>

2.3. Parallèle entre les analyses sensorielles et les analyses chimiques

Afin de voir si les descripteurs sensoriels évalués lors de la dégustation des huit eaux-de-vie étaient corrélés avec certains des composés volatils du bois quantifiés dans le chapitre précédent (p. 107), une régression PLS (Partial Least Squares) a été effectuée grâce au logiciel XLSTAT 2021 (Addinsoft, Paris, France). Il s'agit d'une méthode statistique permettant d'identifier les relations entre plusieurs variables dépendantes (Y) par un nombre important de variables indépendantes (X). Dans notre cas, les variables explicatives X correspondent aux concentrations des composés volatils quantifiés et les variables expliquées Y correspondent aux descripteurs sensoriels évalués lors du profil sensoriel. Cette analyse a été entreprise avec les descripteurs consensuels lors du profil sensoriel, à savoir les descripteurs cuir, tabac, torréfié, fraîcheur, bois sec, sucrosité et chaleur. L'avantage de la méthode PLS est de permettre en une seule analyse, d'observer les relations plus ou moins directes entre les variables explicatives et expliquées, tout comme le positionnement des individus qui correspondent ici aux eaux-de-vie nommées selon la chauffe de barrique utilisée. Un modèle, formé par les deux premières composantes t1 et t2 avec la qualité du modèle suivant : $Q^2(\text{cum}) = 0,356$; $R^2Y(\text{cum}) = 0,491$; $R^2X(\text{cum}) = 0,566$ a été obtenu. L'indice Q^2 cumulé est une mesure globale de la qualité de l'ajustement et de la qualité prédictive. Ici l'indice $Q^2(\text{cum})$ est acceptable, toutefois, ce modèle avait pour objectif une dimension uniquement explicative. Les $R^2Y(\text{cum})$ et $R^2X(\text{cum})$ correspondent aux corrélations entre les composantes et les variables de départ. Plus ils sont proches de 1, plus les composantes sont bien représentatives des X et des Y.

La superposition des variables explicatives, des variables expliquées et des eaux-de-vie étudiées est représentée sur le cercle de corrélation de la Figure 39. Les variables expliquées sont présentées en bleu, et les variables explicatives sont représentées en rouge. Les eaux-de-vie analysées sont représentées en vert.

Le cercle de corrélation permet alors de montrer des corrélations entre certains descripteurs sensoriels évalués lors du profil pour caractériser les eaux-de-vie et les concentrations de certains composés volatils du bois présents dans ces mêmes eaux-de-vie. Nous nous sommes tout d'abord intéressés aux VIP (Variable Importance for the Projection) des différentes variables explicatives (concentrations en composés volatils) pour les deux composantes t1 et t2. Ils permettent d'identifier rapidement quelles sont les variables explicatives les plus importantes sur le modèle. Une valeur inférieure à 0,8 sera considérée comme peu discriminante, et une valeur supérieure à 1 sera jugée comme discriminante. Que ce soit pour la composante t1 ou t2, les quatre aldéhydes phénoliques (vanilline, syringaldéhyde,

sinapaldéhyde et coniféraldéhyde) et les trois dérivés furaniques (furfural, 5-MF et 5-HMF) ont tous des VIP supérieurs à 1 et le guaïcaol à un VIP compris entre 0,8 et 1. Tous ces composés sont alors considérés comme étant les variables explicatives les plus importantes du modèle. En revanche, les whisky-lactones, l'eucalyptol, l' α -terpinène et α -terpineol sont tous des composés ayant des VIP très faibles, bien inférieurs à 0,8 sur les deux composantes, donc ces composés ne seront pas considérés comme discriminants dans le modèle.

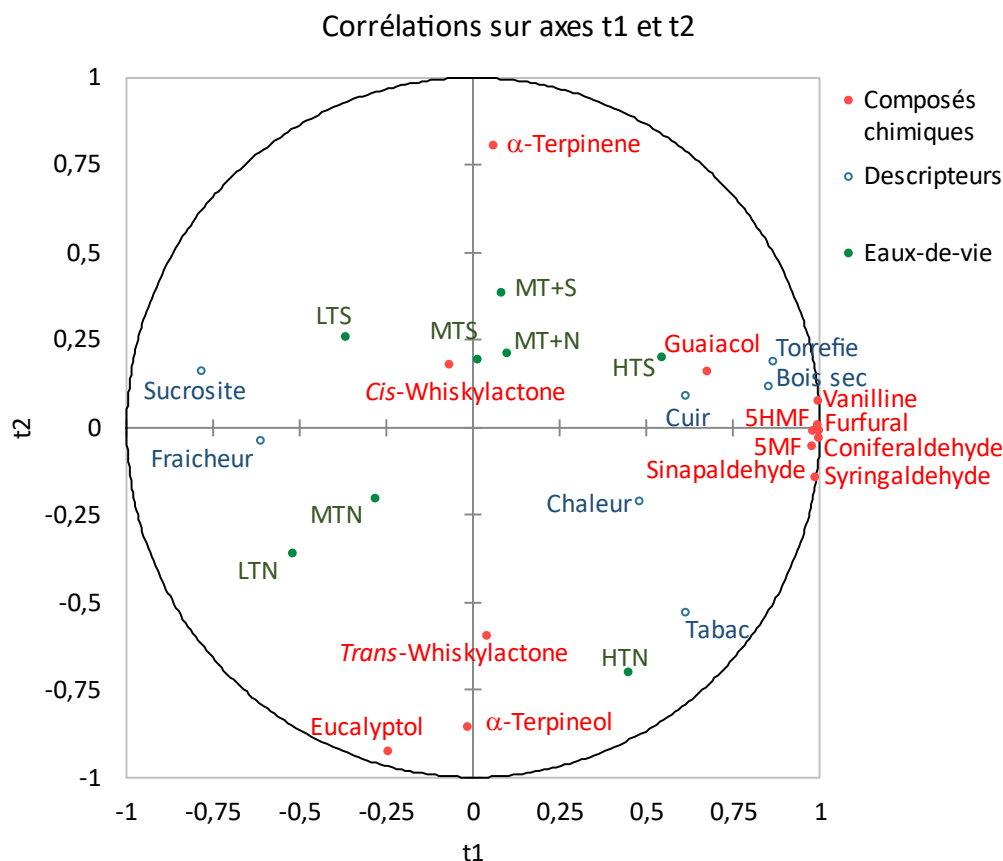


Figure 39. Cercle de corrélation issu de la régression PLS appliquée aux composés chimiques dosés), à la note moyenne des intensités des descripteurs "cuir", "tabac", "torréfié", "bois sec", "fraicheur", "sucrosité" et "chaleur" pour les huit eaux-de-vie de Cognac analysées.

L'interprétation conjointe du cercle de corrélation (Figure 39) et des résultats des tests de corrélation (Spearman) obtenus entre la variable « descripteurs » et les concentrations des molécules, met en évidence le fait qu'il existe différentes tendances en fonction des eaux-de-vie étudiées. Plus particulièrement, les concentrations des quatre aldéhydes phénoliques vanilline (matrice de corrélation : 0,905 ; p-value : 0,005 ; R^2 : 0,819), syringaldéhyde (matrice de corrélation : 0,905 ; p-value : 0,005 ; R^2 : 0,819), sinapaldéhyde (matrice de corrélation : 0,952 ; p-value : 0,002 ; R^2 : 0,907) et coniféraldéhyde (matrice de corrélation : 0,929 ; p-value :

0,002 ; R^2 : 0,862) et des dérivés furaniques (furfural, 5-MF et 5-HMF) (matrice de corrélation : 0,976 ; p-value : 0,001 ; R^2 : 0,953) ont été détectés comme corrélés positivement et significativement au descripteur torréfié. En revanche, le bois sec n'a été décrit comme étant corrélé qu'à un seul des aldéhydes phénoliques, le sinapaldéhyde (matrice de corrélation : 0,738 ; p-value : 0,046 ; R^2 : 0,545) aux trois dérivés furaniques (matrice de corrélation : 0,762 ; p-value : 0,046 ; R^2 : 0,580), mais également au guaiacol (matrice de corrélation : 0,786 ; p-value : 0,037 ; R^2 : 0,617). Ces deux descripteurs ont notamment été utilisés pour décrire l'eau-de-vie vieillie en barrique fabriquée avec une chauffe forte HTS. Ce résultat était attendu car ces composés sont connus pour apporter des notes vanillées, amandes, fumées et toastées aux eaux-de-vie (Zamora, 2019).

Les descripteurs cuir et tabac n'ont pas été décrits comme positivement corrélés aux aldéhydes phénoliques et aux dérivés furaniques mais ces composés sembleraient toutefois contribuer de manière positive à la perception de ces descripteurs.

Par ailleurs, le descripteur fraîcheur n'est pas corrélé à l'eucalyptol (matrice de corrélation : 0,119 ; p-value : 0,793 ; R^2 : 0,014) qui est un composé apportant de la fraîcheur et des notes mentholées (Thibaud *et al.*, 2020). Ce composé faisant parti des composés non discriminants dans ce modèle, il est possible que la fraîcheur perçue par les juges n'était peut-être pas définie par ce type de composés. Toutefois, il semblerait que la vanilline, le syringaldéhyde, le furfural et le 5-HMF, tous ayant des valeurs de corrélation identiques : matrice de corrélation : -0,714 ; p-value : 0,046 ; R^2 : 0,510, soient anti-corrélés de façon significative à la sensation de fraîcheur perçue. Il est alors possible que la présence de ces composés en concentrations élevées dans les eaux-de-vie entraîne une sensation de chaleur et non de fraîcheur lors de la dégustation de ces eaux-de-vie (chauffes fortes), contrairement à une eau-de-vie chauffe faible (LTN ou LTS) notée par le descripteur fraîcheur. De plus, le descripteur fraîcheur semble également décrit comme étant l'inverse du descripteur chaleur, même si ce dernier ne semble pas être corrélé à des composés quantifiés dans cette étude (Figure 39).

Enfin, les concentrations des quatre aldéhydes phénoliques vanilline, syringaldéhyde, sinapaldéhyde et coniféraldéhyde, ainsi que du guaiacol et des dérivés furaniques (furfural, 5-MF et 5-HMF) ont été détectés comme anti-corrélés de façon significative au descripteur sucrosité. Ce dernier serait plus perçu dans des eaux-de-vie vieilles en barriques chauffée faiblement.

Les α -terpinene et α -terpineol ne sont pas corrélés à un descripteur en particulier car ils apportent des notes d'agrumes ou florales, qui n'ont pas été étudiées lors de la dégustation. La

cis-whiskylactone permettrait en revanche de décrire les eaux-de-vie vieilles en barriques fabriquées avec des intensités de chauffes moyennes, mais le descripteur noix de coco n'avait pas été généré lors de la génération de descripteurs. Toutefois, il est possible qu'à 12 mois, ce composé n'ait pas atteint sa concentration maximale dans ces eaux-de-vie, et qu'il n'ait donc pas été perçu comme discriminant lors de la génération de descripteurs.

La régression PLS a permis de visualiser la corrélation entre certains descripteurs évalués lors de la caractérisation sensorielle des eaux-de-vie et les concentrations en composés volatils du bois quantifiés dans cette étude.

3. RECHERCHE DE L'IMPACT ORGANOLEPTIQUE DES ELLAGITANINS C-GLUCOSIDIQUES DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC

L'impact organoleptique des ellagitanins C-glucosidiques sur les boissons alcooliques n'a jamais été démontré. Ces composés présenteraient d'une part une forte affinité avec les protéines salivaires impliquées dans la sensation tactile d'astringence (Soares *et al.*, 2019) et d'autre part, ils seraient favorables à des interactions avec les parties lipidiques des papilles impliquées dans la perception de l'amertume. Cependant les seuils de perception organoleptiques mesurés pour l'astringence étaient toujours supérieurs aux concentrations retrouvées dans le whisky mais inférieurs aux concentrations retrouvées dans certains vins rouges (Glabasnia & Hofmann, 2006). Toutefois, le test utilisé était un test de demi-langue dans l'eau à pH 4,5, qui ne tient pas compte des conditions œnologiques. Une étude récente a montré par contre que certains dérivés d'ellagitanins avaient un impact organoleptique sur le vin, et lui apporteraient rondeur et amplitude (Chira *et al.*, 2020a). Etant donné que l'impact organoleptique de ces composés n'a jamais été recherché dans les eaux-de-vie de Cognac, des tests triangulaires gustatifs ont été réalisés afin d'étudier leur impact dans cette matrice.

En effet, le test triangulaire (ISO-4120 : 2004) est un test discriminant, permettant d'établir s'il existe des différences entre deux produits. Pour cela, trois échantillons sont présentés aux dégustateurs, parmi lesquels deux échantillons sont identiques. Il est alors demandé aux membres du panel de goûter les trois échantillons présents devant eux dans l'ordre indiqué, et d'indiquer quel échantillon leur paraît différent. Les résultats seront ensuite interprétés statistiquement en utilisant la table de la loi binomiale (ISO 4120 : 2007). Elle permet de connaître le nombre minimum de dégustateurs ayant trouvé la bonne réponse qui serait nécessaire afin de conclure à une différence significative (Annexe 2).

Pour cela, les huit ellagitanins C-glucosidiques ont été purifiés au laboratoire, à partir d'une solution modèle d'eau-de-vie, dans laquelle de l'extrait sec de bois de chêne avait été placé. Trois groupes de composés ont pu être obtenus, à savoir un premier groupe composé des deux monomères vescalagine et castalagine, purifiés séparément, un deuxième groupe composé des deux monomères glucosylés grandinine et roburine E purifiés en mélange, et un troisième groupe composé des dimères et dimères glucosylés, les roburine A-D, chaque sous-famille purifiée en mélange.

Quatre tests triangulaires ont alors été réalisés dans de l'eau-de-vie de blanche de Grande Champagne GC 2020 réduite à 40 % (v/v). Les trois premiers tests triangulaires ont consisté à

faire déguster chacun des trois groupes de composés, et le quatrième test triangulaire a permis de faire déguster un mélange des huit ellagitanins C-glucosidiques (Figure 40).

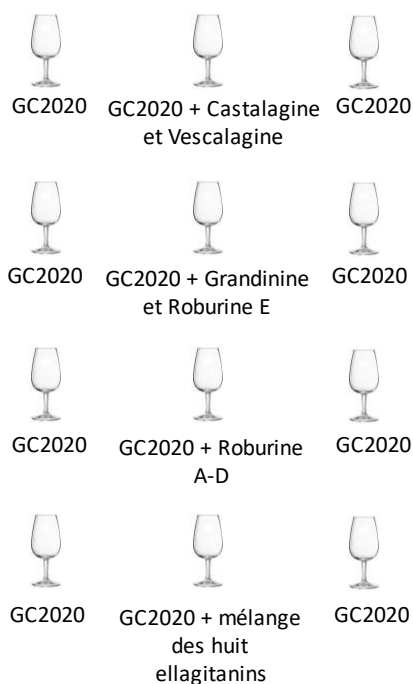


Figure 40. Schéma de présentation des quatre tests triangulaires

Le choix des concentrations a été basé sur la concentration maximale retrouvée dans les eaux-de-vie de Cognac en rotations. Un plateau était obtenu à 10 mg/L de la somme des huit ellagitanins en équivalents vescalagine. Le pourcentage de chaque ellagitanin a été calculé, et les concentrations utilisées pour la dégustation étaient alors au prorata de la teneur de chacun des composés. La castalagine représentait 51,6 % et la vescalagine 5,6 %, représentant ensemble 57,2 % des huit ellagitanins C-glucosidiques. Les grandinine et roburine E représentaient 21,3 %, les roburine A et D 14,4 %, les roburine B et C 7,1 % et les grandinine et roburine E 21,3 % des huit ellagitanins C-glucosidiques

L'évaluation sensorielle a été réalisée dans une salle standardisée au sein de l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV), à température ambiante (20 °C) (ISO-8589, 1988). La salle est équipée de postes de dégustation individuels. Des verres ISO (ISO-3591 : 1977) ont été utilisés, contenant 20 mL de liquide, et codés avec des codes à trois chiffres. Chaque dégustateur avait ses propres verres et l'ordre des verres était systématiquement randomisé. Le panel était composé de 24 juges (16 femmes et 8 hommes). Pour chacun des tests triangulaires, trois verres étaient présentés, deux d'entre eux étaient identiques, contenant soit de l'eau-de-vie blanche, soit l'eau-de-vie supplémentée en ellagitanins, et le troisième contenait soit la même eau-de-vie supplémentée en ellagitanins C-glucosidiques, soit de l'eau-de-vie blanche. Les

verres ont à chaque fois été présentés selon la présentation AAB, ABA, BAA, BBA, BAB et ABB dans un ordre aléatoire.

Les résultats des tests triangulaires n'ont pas permis l'obtention de différences significatives ($p\text{-value} > 0,05$) car d'après la loi binomiale, pour un panel de 24 personnes, 13 bonnes réponses étaient nécessaires pour obtenir une différence significative ($p\text{-value} < 0,05$). Or, pour le test triangulaire du mélange castalagine et vescalagine, seulement 8 réponses correctes ont été dénombrées, pour le test du mélange grandinine et roburine E, 9 réponses correctes ont été notées, et pour les roburine A-D ainsi que pour le mélange des huit ellagitanins C-glucosidiques, seulement 7 et 6 réponses correctes ont été obtenues respectivement.

Il peut alors être conclu que pour des teneurs en ellagitanins C-glucosidiques allant jusqu'à 10 mg/L dans les eaux-de-vie, ces composés ne semblent pas intervenir de façon directe sur le goût des eaux-de-vie.

Toutefois, des concentrations en ellagitanins C-glucosidiques bien supérieures ont par la suite été retrouvées lors du suivi d'une même eau-de-vie au cours du vieillissement. Au bout de 3 mois de contact avec le bois, l'eau-de-vie présentait des concentrations comprises entre 14,4 mg/L et 23,1 mg/L d'ellagitanins C-glucosidiques, selon le niveau de chauffe de la barrique utilisé. Un nouveau test triangulaire a alors été réalisé à la concentration maximale de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques retrouvée dans les eaux-de-vie de cette étude. Le mélange des huit ellagitanins C-glucosidiques a alors été ajouté à 23 mg/L dans de l'eau-de-vie blanche de GC 2020 réduite à 40 % (v/v). Le pourcentage de chaque ellagitanin a de nouveau été calculé sur ces eaux-de-vie, et le mélange des huit ellagitanins a été réalisé en tenant compte de leurs proportions individuelles. La castalagine représentait 77,4 % des huit ellagitanins C-glucosidiques, la vescalagine 5,3 %, le mélange grandinine et roburine E représentait 3,8 %, le mélange roburine B et C seulement 1,3 %, et enfin, le mélange roburine A et D représentait 3,7 % des huit ellagitanins C-glucosidiques.

Le panel était composé de 25 juges (17 femmes et 8 hommes). De la même manière que pour les tests triangulaires présentés précédemment, trois verres étaient présentés, deux d'entre eux étaient identiques, contenant soit de l'eau-de-vie blanche, soit l'eau-de-vie supplémentée avec le mélange des huit ellagitanins C-glucosidiques, auquel cas le troisième contenait la même eau-de-vie supplémentée en ellagitanins C-glucosidiques, ou de l'eau-de-vie blanche. Les verres ont à chaque fois été présentés selon la présentation AAB, ABA, BAA, BBA, BAB et ABB dans un ordre aléatoire.

Les résultats de ce test triangulaire ont permis l'obtention de différences significatives (p -value < 0,05) car d'après la loi binomiale, pour un panel de 25 personnes, 13 bonnes réponses étaient nécessaires pour obtenir une différence significative à 5 %. Or, 13 bonne réponses ont été obtenues lors de ce test. Ce test a ainsi permis de démontrer pour la première fois que les ellagitanins C-glucosidiques contribuent au goût des eaux-de-vie de Cognac, possédant alors un impact organoleptique.

Un seuil de détection gustatif serait à mettre en place afin de connaître la concentration minimum à partir de laquelle ces composés présenteraient un impact organoleptique pour au moins 50 % des dégustateurs. De plus, une description du goût des eaux-de-vie contenant des ellagitanins C-glucosidiques serait à mettre en place afin de connaître les descripteurs associés à ces composés.

Pour conclure, ce chapitre a mis en évidence la façon dont la chauffe de la barrique peut influencer la qualité organoleptique des eaux-de-vie de Cognac. Des corrélations entre certains descripteurs évalués lors de la caractérisation sensorielle des eaux-de-vie et les concentrations de certains composés volatils ont été trouvées. Les eaux de vie vieilles en barriques qui représentaient des chauffes légères étaient significativement différentes des eaux-de-vie qui étaient en contact avec des barriques chauffées fortement. Ces dernières étaient caractérisées comme plus qualitatives par les dégustateurs, et elles présentaient des couleurs plus foncées que les autres, avec des teintes plus orangées. En parallèle, l'impact des ellagitanins sur la perception gustative des eaux-de vie de Cognac a été montré pour la première fois.

Par ailleurs, en partant du postulat que ces composés se transforment rapidement dans les eaux-de-vie étant donné que leurs concentrations diminuent après 3 mois de vieillissement, il est probable que de nouveaux composés dérivés des ellagitanins du bois soient présentes dans cette matrice riche en alcool. Le quatrième chapitre de cette thèse s'intéressera alors à la recherche de nouvelles molécules d'ellagitanins qui seraient présentes lors d'un long vieillissement, et qui pourraient présenter un impact sur le goût des eaux-de-vie.

CHAPITRE 4 : RECHERCHE DES COMPOSES D'EVOLUTION DES
ELLAGITANINS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC AU COURS DU
VIEILLISSEMENT

Le dernier chapitre de cette thèse a été consacré à une meilleure compréhension du vieillissement des eaux-de-vie, en étudiant les phénomènes chimiques qui ont lieu durant cette étape de fabrication du Cognac. En effet, en sachant que les ellagitanins C-glucosidiques sont extraits lors des premiers mois du vieillissement des eaux-de-vie avant de voir leurs concentrations diminuer jusqu'à ne plus être quantifiables et du fait que ces composés sont sujets à des transformations chimiques, la recherche de composés d'évolution des ellagitanins C-glucosidiques, ainsi que leur impact organoleptique dans les eaux-de-vie a été entreprise.

1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1.1. Eaux-de-vie utilisées et préparation des échantillons

Afin de rechercher des composés d'évolution des ellagitanins C-glucosidiques lors d'un long vieillissement, une verticale d'eaux-de-vie de Cognac de Grande Champagne allant de 1986 à 2020 a été utilisée (Tableau 5). Deux bouteilles par millésime ont été fournies par la Maison Courvoisier. Il s'agit d'eaux-de-vie toujours en vieillissement en barrique à ce jour, pour lesquelles des prélèvements ont été réalisés pour cette étude.

Tableau 5. Description des eaux-de-vie de la verticale

Nom de l'eau-de-vie	Millésime	Compte d'âge
GC-0	2020	0
GC-1	2019	1
GC-2	2018	2
GC-3	2017	3
GC-4	2016	4
GC-5	2015	5
GC-6	2014	6
GC-7	2013	7
GC-8	2012	8
GC-9	2011	9
GC-10	2010	10
GC-11	2009	11
GC-12	2008	12
GC-15	2005	15
GC-21	1999	21
GC-29	1991	29
GC-30	1990	30
GC-33	1987	33
GC-34	1986	34

100 mL de chacune des eaux-de-vie ont été évaporés à sec. L'extrait sec a été ensuite resolubilisé dans 500 µL d'eau milliQ acidifiée à 0,1 % d'acide formique et filtré sur filtre 0,45 µm avant d'être analysé à l'UPLC-DAD-ESI-Q-TOF.

1.2. Système utilisé pour l'analyse UPLC- DAD-ESI-Q-TOF

Le système UPLC-DAD-ESI-Q-TOF utilisé était un système de chromatographie liquide Agilent 1290 Infinity, composé d'une pompe binaire (1290 Infinity), d'un compartiment à colonne thermostaté (1290 Infinity Thermostatted Column Compartment), d'un injecteur d'échantillon (1290 Infinity Autosampler) et d'un détecteur à barrette de diodes (1290 Infinity Diode-Array Detector) qui était couplé à un spectromètre de masse ESI-Q-TOF (Agilent 6530 Accurate Mass).

La séparation chromatographique a été effectuée avec la même colonne que celle utilisée à l'HPLC-QQQ, c'est-à-dire une colonne Kinetex (150 x 3 mm, 2,6 µm) de la marque Phenomenex (Le Pecq Cedex, France). De même, les solvants utilisés sur ce système étaient toujours de l'eau acidifiée avec de l'acide formique à 0,1 % (solvant A) et du méthanol acidifié à 0,1 % d'acide formique (solvant B). Tous les solvants étaient de qualité LC-MS. Le débit était de 0,4 mL/min et le volume d'injection était de 5 µL. Une méthode longue a été favorisée, afin d'obtenir une meilleure séparation des différents composés et de faciliter ainsi la recherche de composés inconnus. Le gradient du solvant B pour l'analyse des eaux-de-vie était alors le suivant : 2 % de 0 à 2 min ; 2 à 3% de 2 à 5 min ; 3 à 3,5 % de 5 à 6 min ; 3,5 à 4 % de 6 à 7 min ; 4 à 4,5 % de 7 à 8 min ; 4,5 à 5 % de 8 à 10 min ; 5 à 10 % de 10 à 14 min ; 10 à 15 % de 14 à 17 min ; 15 à 20 % de 17 à 23 min ; 20 à 60 % de 23 à 53 min ; 60 à 99 % de 53 à 60 min ; 99 % de 60 à 64 min, 99 à 2 % de 64 à 65 min, puis la colonne était rééquilibrée dans les conditions initiales durant 4 min avant l'injection suivante. La longueur d'onde utilisée pour l'acquisition des signaux était 280 nm.

Les conditions du spectromètre de masse ESI-Q-TOF étaient les suivantes : pour l'ionisateur en mode négatif, la température et le débit de gaz étaient de 350 °C et de 9 L/min respectivement ; la température et le débit de gaz de gainage étaient de 350 °C et de 11 L/min respectivement et la tension capillaire était de 4500 V. Le fragmenteur a toujours été fixé à 150 V et l'énergie de collision utilisée pour les analyses en MS/MS variait de 30 à 40 % selon les composés. Les données obtenues ont été traitées par le logiciel MassHunter Qualitative Analysis pour l'identification des composés.

1.3. Déroulement des étapes utilisées dans la recherche de composés d'évolution

1.3.1. Recherche de possibles dérivés d'ellagitanins dans une eau-de-vie vieillie en barrique

La recherche de composés d'évolution des ellagitanins C-glucosidiques s'est faite à partir de l'eau-de-vie GC-10, en partant du postulat qu'à ce stade du vieillissement, de nombreux composés d'évolution des ellagitanins encore inconnus auront été formés dans les eaux-de-vie de Cognac.

La stratégie mise en place s'est alors basée sur le fait que les huit ellagitanins C-glucosidiques du bois de chêne ont la particularité de tous former, lors d'une analyse en fragmentation MS/MS, un fragment à m/z 301 résultant du clivage de l'unité HHDP supérieure de la molécule, qui par réarrangement dans la source forme l'acide ellagique. Ainsi, une molécule inconnue qui serait absente du bois de chêne mais présente dans les eaux-de-vie élevées en barrique et qui présenterait en MS/MS un fragment à m/z 301 serait très vraisemblablement un composé d'évolution des ellagitanins C-glucosidiques du bois de chêne. En effet, sur les chromatogrammes de l'ion $[M-H]^-$ m/z 301, de nombreux pics étaient présents, indiquant qu'il était possible que d'autres composés possédant ce fragment soient présents dans la matrice, et qu'il s'agissait probablement d'autres ellagitanins (Figure 41).

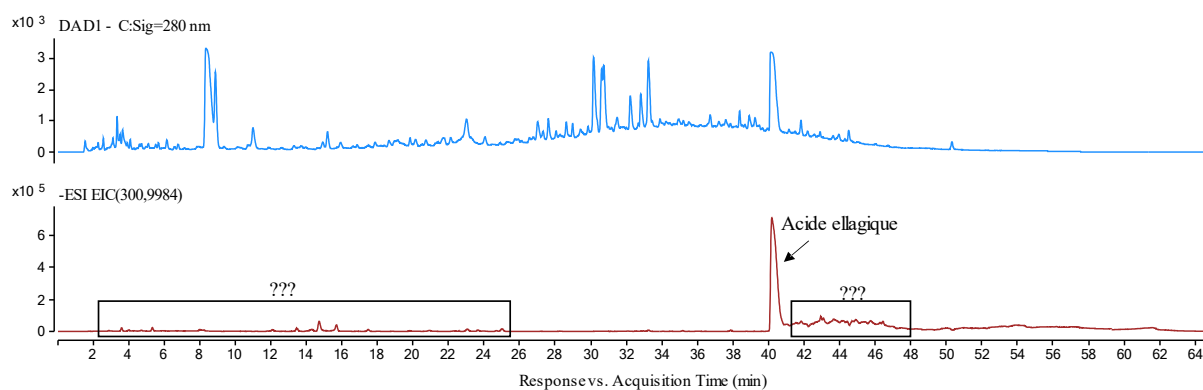


Figure 41. Chromatogramme UV de l'eau-de-vie GC-10 ainsi de l'ion m/z 301.

Pour chaque temps de rétention où le fragment acide ellagique était présent, les ions moléculaires majoritaires associés à ce fragment ont été extraits. Lorsque les chromatogrammes des ions extraits présentaient un pic pur ayant une intensité élevée, ces pics étaient sélectionnés. Ils étaient alors tout d'abord recherchés dans d'autres eaux-de-vie de la verticale, afin de voir s'ils semblaient stables ou non au cours du vieillissement en barrique.

Avant d'initier un travail de purification en vue d'une identification et caractérisation structurale, l'étape suivante a consisté en un travail de recherche bibliographique dans des bases

de données, afin de voir si ces composés avaient déjà été identifiés et caractérisés dans la littérature. Si ce n'était pas le cas, un fractionnement en MS/MS à l'ESI-Q-TOF était mis en place pour tous les ions moléculaires ciblés au préalable et susceptibles d'être de nouveaux ellagitanins. Une fois les spectres de fragmentation obtenus pour les différents composés et ayant ciblé les composés présentant possiblement une structure de type ellagique, un protocole de fractionnement et de purification a été mis en place.

1.3.2. Fractionnement à partir d'une solution modèle d'eau-de-vie

Il est connu dans la littérature, que pour extraire les ellagitanins du vin rouge, des extractions solides-liquides sont réalisées à l'aide de cartouches SPE contenant du gel TSK HW50F (Jourdes et al., 2011; Saucier et al., 2006). Une succession d'extractions avec différents solvants est alors réalisée afin de fractionner l'extrait de vin et de récupérer la fraction contenant les ellagitanins. Dans ce protocole, le solvant permettant de les extraire est un mélange d'eau milliQ (30 %) et acétone (70 %) avec 0,4 % d'acide formique. Des tests ont alors été réalisés sur l'eau-de-vie, mais bien que des fractionnements aient été possible, il était trop compliqué de bien séparer les différentes molécules d'ellagitanins et de les purifier. En effet, l'eau-de-vie est une matrice complexe, riche en alcool et en composés du bois. C'est pourquoi une autre approche a finalement été utilisée pour la purification de composés d'évolution des ellagitanins.

1.3.2.1. Préparation de la solution modèle d'eau-de-vie

Une solution modèle d'eau-de-vie enrichie en extrait sec de bois contenant les huit ellagitanins a été utilisée afin de travailler sur une matrice moins complexe que l'eau-de-vie vieillie en barrique. Pour cela, un extrait sec de bois enrichi en ellagitanins C-glucosidiques a été obtenu par extraction solide-liquide. De la sciure de bois non chauffée a été placée dans un mélange acétone (70 %) et eau milliQ (30 %), le tout placé sur une table d'agitation durant trois jours à 220 rpm. Le macérat était ensuite filtré et évaporé à sec, repris dans de l'eau milliQ et lyophilisé afin d'obtenir de l'extrait sec de bois enrichi en ellagitanins du bois. Finalement, 29 g d'extrait sec de bois ont été placés dans un litre de solution hydroalcoolique à 60 % d'éthanol, correspondant à 3 g des huit ellagitanins C-glucosidiques. Le pH était de 4,5, soit proche de celui de l'eau-de-vie. La solution modèle a ensuite été placée à l'étuve à 50 °C. Durant plusieurs semaines, la cinétique d'évolution des ellagitanins du bois et la formation des composés d'évolution a été suivie par analyse à l'HPLC-QQQ. Au bout de 7 semaines, lorsque les teneurs des huit ellagitanins C-glucosidiques avaient fortement diminuées et que les composés inconnus

ciblés étaient formés, cette solution a été évaporée à sec et lyophilisée afin d'obtenir un extrait sec de solution modèle.

1.3.2.2. Fractionnement sur colonne de gel TSK HW50F

Un fractionnement de cet extrait sec a alors été réalisé sur colonne de gel TSK HW50F.

1 g d'extrait sec par fractionnement étaient dissous dans un mélange méthanol/ eau milliQ (70/30) acidifié à 0,4 % d'acide formique. Le mélange était ensuite déposé sur le haut de la colonne de gel Toyopearl TSK HW50F (Tosoh, Tokyo, Japon), après avoir préalablement équilibré la colonne durant 30 min avec de l'eau milliQ acidifiée à 0,4 % d'acide formique. Cette dernière faisait environ 2 cm de diamètre et 28 cm de haut. Après équilibrage de la colonne, le solvant d'élution était le même que celui utilisé pour la solubilisation de l'extrait sec, pour une durée de 30 min. Ensuite, un gradient d'élution était utilisé, avec l'eau milliQ acidifiée à 0,4 % d'acide formique comme solvant A et de l'acétone comme solvant B. Le gradient de B utilisé pour le fractionnement variait de 0 à 70 % pendant quatre heures, à un débit de 1 mL/min, le tout contrôlé par un système de pompes Varian.

Des fractions ont alors été collectées toutes les 30 min, évaporées à sec puis reprises dans 1 mL d'eau milliQ acidifiée à 0,1 % d'acide formique et analysées à l'HPLC-QQQ, permettant ainsi l'obtention de huit fractions plus ou moins complexes (Figure 42). En effet, comme il peut être observé sur le chromatogramme UV de l'extrait sec de la solution modèle avant fractionnement sur gel TSK HW50F, l'extrait, bien que moins complexe que celui d'une eau-de-vie vieillie une décennie en barrique, restait encore bien trop complexe pour entamer un protocole de purification sans étape de fractionnement préalable. Les chromatogrammes des fractions 1 à 4 après fractionnement sur gel TSK HW50F, montrent que les ellagitanins C-glucosidiques présents dans le bois de chêne, ainsi que des molécules de faible poids moléculaire telles que l'acide gallique (m/z 169), étaient extraites lors des deux premières heures du fractionnement, quand le pourcentage en solvant A était le plus élevé. En effet, ces composés étant hydrosolubles, il était normal qu'ils soient élués au départ. Bien que certains de ces composés étant toujours présents dans les fractions suivantes, mais avec des teneurs moins importantes, il peut être observé sur les fractions 5 à 8 obtenues après fractionnement que ces fractions étaient moins complexes que l'extrait sec de départ, ne contenant plus les ellagitanins provenant du bois de chêne mais contenant de nombreux possibles composés d'évolution d'ellagitanins puisque ceux-ci présentaient le fragment à m/z 301.

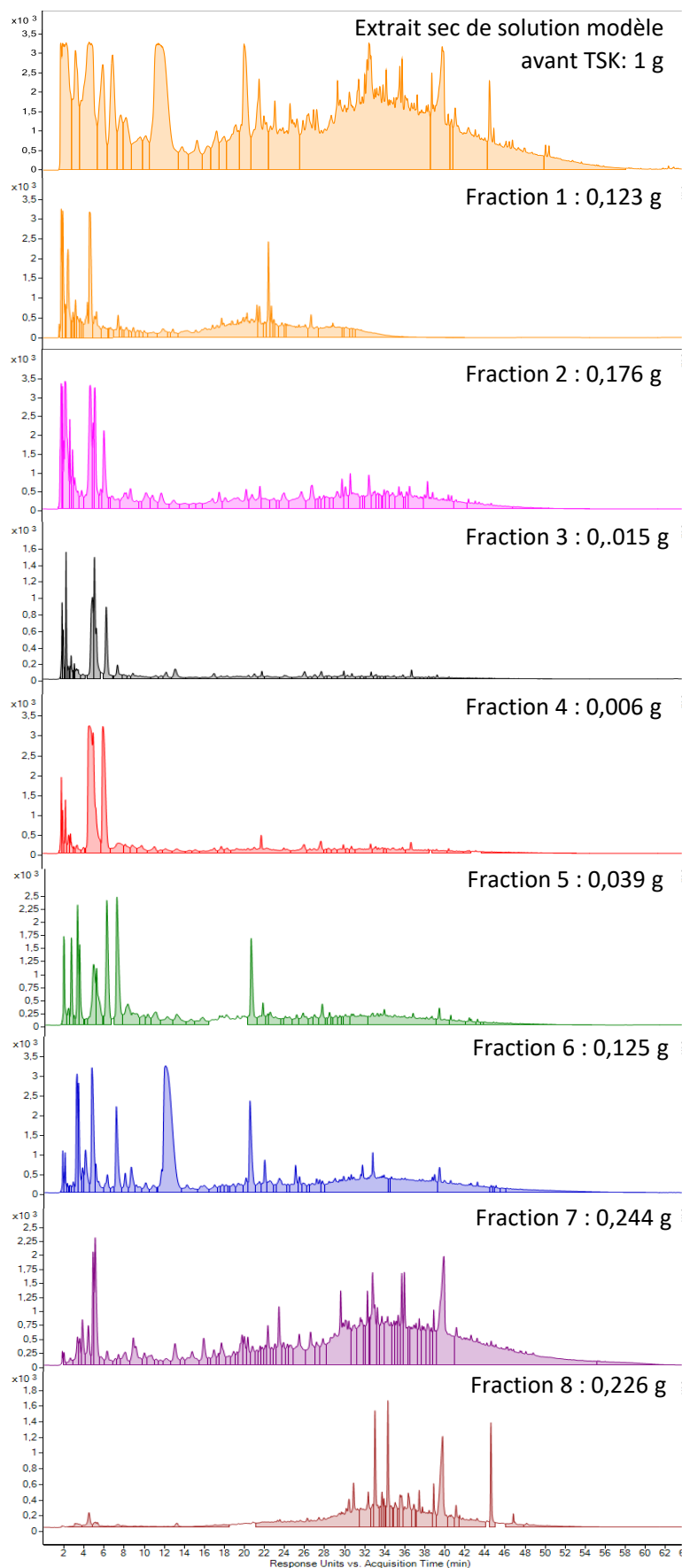


Figure 42. Chromatogramme UV de l'extrait sec de la solution modèle avant passage sur colonne TSK, et des huit fractions obtenues après colonne TSK

Selon les composés ciblés pour la purification en vue d'une caractérisation structurale par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), les fractions obtenues lors du fractionnement sur TSK ont été injectées dans une HPLC-semi-préparative (Varian 25) afin de purifier les composés d'intérêt. Un gradient HPLC a été développé pour chacune des fractions TSK injectées et selon les composés à purifier. Quoiqu'il en soit, la colonne utilisée était une XSelect HSS T3 OBD (250 x 10 mm, 5 µm, Waters) et la longueur d'onde pour la détection UV était fixée à 280 nm. Les phases mobiles étaient les mêmes que pour l'injection HPLC-QQQ et UPLC-DAD-ESI-Q-TOF et le débit était toujours de 4 mL/min. Les fractions récoltées en HPLC semi-préparative ont toujours été évaporées et reprises dans 500 µL d'eau milliQ acidifiée à 0,1 % d'acide formique afin d'être injectées à l'HPLC-QQQ pour contrôler la pureté de chaque composé. Les fractions étaient ensuite lyophilisées afin d'obtenir de la poudre pour la caractérisation RMN.

2. ARTICLE : IDENTIFICATION, QUANTIFICATION AND SENSORY CONTRIBUTION OF NEW C-GLUCOSIDIC ELLAGITANNIN-DERIVED SPIRIT COMPOUNDS

Les premiers résultats de ce chapitre ont fait l'objet d'un article scientifique intitulé « Identification, Quantitation and Sensory Contribution of New C-Glucosidic Ellagitannin-Derived Spirit Compounds ». Cet article a été soumis le 2 novembre 2021 dans le journal Food Chemistry et accepté le 8 janvier 2022. Les différentes étapes réalisées en vue d'isoler de nouveaux composés ont été plus amplement décrites dans la publication.

**IDENTIFICATION, QUANTIFICATION AND SENSORY CONTRIBUTION OF
NEW C-GLUCOSIDIC ELLAGITANNIN-DERIVED SPIRIT COMPOUNDS**

Mathilde Gadrat^{1,2}, Yoan Capello³, Catherine Emo², Joël Lavergne², Stéphane Quideau^{3,4},
Michaël Jourdes¹, Pierre-Louis Teissède¹ and Kléopatra Chira^{1,*}

1. Unité de recherche Œnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon, France
2. Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France
3. Univ. Bordeaux, ISM (UMR-CNRS 5255), 351 cours de la Libération, 33405 Talence Cedex, France
4. Institut Universitaire de France, 1 rue Descartes, 75231 Paris Cedex 05, France.

*corresponding author: kleopatra.chira@u-bordeaux.fr

Abstract

Ellagitannins are the main extractible phenolic compounds in oak wood. They can be extracted by eaux-de-vie aging in barrels but rapidly undergo chemical transformations, such as hydrolysis, reduction, oxidation or even substitution reactions. Given gaps in knowledge about their composition in spirits, the goal of this work was to explore ellagitannin behavior during Cognac eaux-de-vie aging and search for new C-glucosidic ellagitannin-derived compounds. A purification protocol was followed to isolate the new formed compounds. UPLC-UV-Q-ToF and NMR spectroscopy were used to characterize a new C-glucosidic ellagitannin, named brandy tannin B. Two new forms of whiskey tannins were also isolated. The new compound, Brandy tannin B along with β -1-O-ethylvescalagin and β -1-O-ethylvescalin, and whiskey tannins were identified and quantified for the first time in Cognac eaux-de-vie. In addition, the organoleptic impact of brandy tannin B was evaluated. This work brings new insights into ellagitannin composition and their contribution to spirit quality.

Keywords: Brandy tannin B, C-glucosidic ellagitannin-derived spirit compounds, eau-de-vie, oak wood

Introduction

Cognac is an emblematic French spirit made exclusively in Charente and Charente Maritime. It is a spirit produced from double distilled white wine, then called eau-de-vie, and aged afterwards in oak barrels for several years. A blend of several hundred eaux-de-vie create the rich and complex matrix named Cognac. Young Cognac eau-de-vie has a high ethanol concentration (60-70% v/v), is colorless and, typically, has floral and fruity organoleptic characteristics, as it is rich in volatile compounds. To date, more than 500 volatile compounds have been detected in Cognac, mainly esters, alcohols, aldehydes, and volatile acids (Ferrari *et al.*, 2004; Jeleń *et al.*, 2019; Ledauphin *et al.*, 2010; Thibaud *et al.*, 2020). It is the contact with wood during barrel aging that enriches the eaux-de-vie with nonvolatile compounds such as phenolic aldehydes, phenolic acids, coumarins or lignans (Canas, 2017). This is a crucial step in Cognac production, because as with wine, the wood brings structure to the eau-de-vie, and modifies its color, aromas and taste (J. R. Mosedale & Puech, 1998; J.-L. Puech, 1981; J.-L. Puech *et al.*, 1999). Hydrolyzable tannins such as ellagitannins are the main phenolic compounds in oak wood. C-glucosidic ellagitannins have a specific structure composed of an open-chain glucose core, which is acylated in positions 4 and 6 by an hexahydroxydiphenoyl unit (HHDP) and by a nonahydroxyterphenoyl (NHTP) unit in positions 2, 3, and 5. Moreover, these compounds have a C-glucosidic bond between the carbon-1 of the open-chain glucose core and position 2 of the trihydroxyphenoyl unit esterified to position 2 of the glucose core (Quideau *et al.*, 2005). Vescalagin and its C-1 epimer castalagin were the first C-glucosidic ellagitannins to be isolated from *Castanea* (chestnut) and *Quercus* (oak) and characterized fifty years ago (Mayer *et al.*, 1967, 1969, 1971). Six other ellagitannins were isolated later from the same two hardwood species: the dimers roburin A and D, the glycosylated monomers grandinin and roburin E, and the glycosylated dimers roburin B and C (Figure 1) (Du Penhoat *et al.*, 1991; Penhoat & Veronique, 1991).

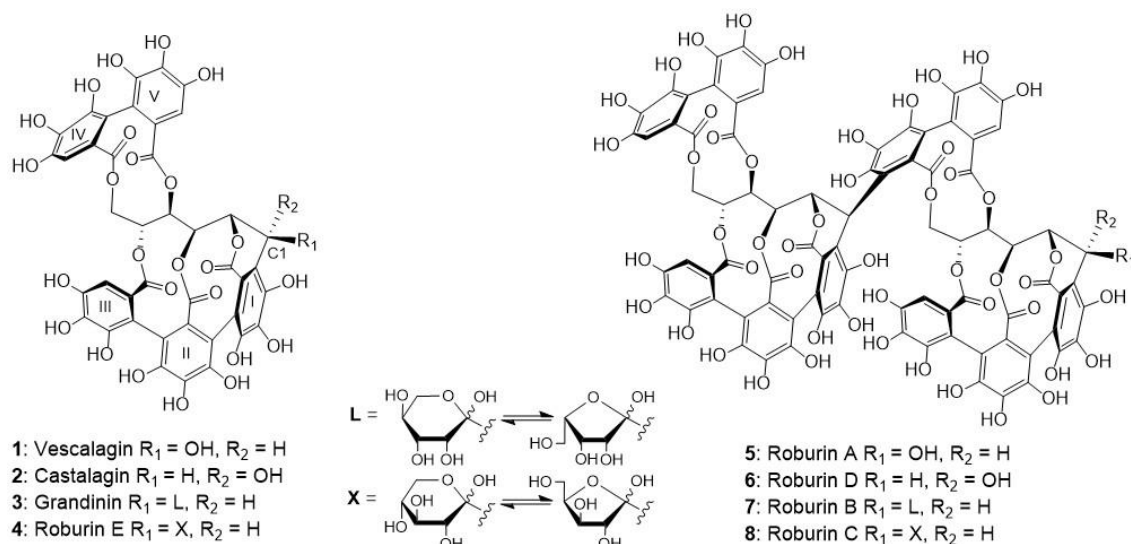


Figure 1. Chemical structures of the eight C-glucosylated ellagitannins. L and X correspond to Lyxose and Xylose, respectively.

These compounds have been identified in Cognac eaux-de-vie (Gadrat *et al.*, 2021), but their organoleptic impact has not been clearly demonstrated in wine or in this matrix. Ellagitannins are believed to be involved in the perception of bitterness and to increase the sensation of astringency (Chira *et al.*, 2015), but concentrations found in whiskey have been below the detection thresholds for bitterness (Glabasnia & Hofmann, 2006). The detection threshold of the astringency sensation by means of the half-tongue test is lower than the concentrations found in the wines (Glabasnia & Hofmann, 2006). However, there is no contact during the half-tongue test between the ellagitannins and the entire oral cavity. From an oenological point of view, this is a very important limitation, as astringency is a sensation that can be generated on non-gustatory tissues, such as the upper lip and gum.

Although few studies have focused on these compounds in spirits, and more particularly in Cognac eaux-de-vie, it has been shown that ellagitannins are compounds that undergo transformations over time (J. L. Puech *et al.*, 1999). This may involve hydrolysis, reduction or oxidation, and substitution reactions. Among such evolutionary compounds, β -1-O-ethylvescalagin formed by the reaction of ethanol on the hydroxylated C-1 center of vescalagin through a nucleophilic substitution in acidic media has been identified (Quideau *et al.*, 2005). This compound has been the subject of several studies in red wines (Jourdes *et al.*, 2011; Rasines-Perea *et al.*, 2019; Saucier *et al.*, 2006), but has never been found before in Cognac eaux-de-vie. The slow oxygenation provided by the wood contributes to the evolution of ellagitannins in spirits. Moreover, in spirits, oxidation phenomena are responsible for the formation of new compounds referred to as whiskey tannins A and B, the structures of which are represented in Figure 2. These compounds were isolated and identified for the first time in

Japanese whiskey (Fujieda *et al.*, 2008). More recently, another ellagitannin-derived spirit compound has also been isolated, characterized and quantified for the first time in Cognac eaux-de-vie. This compound, which is referred to as brandy tannin A, is the β -1-*O*-ethyl ether analogue of whiskey tannin A. It derives from the oxidative solvolysis of vescalagin and has been reported to increase significantly spirits sweetness (Winstel *et al.*, 2022).

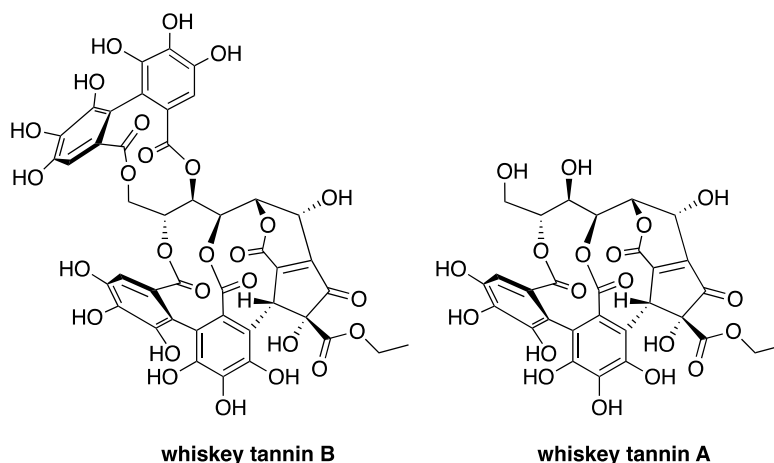


Figure 2. Structure of whiskey tannins B and A.

These recent findings suggest that the ellagitannin composition of spirits is still poorly understood, and that there are still many unidentified compounds formed during barrel ageing. In order to better understand the evolution of *C*-glycosidic ellagitannins during the ageing of eaux-de-vie and the resulting chemical changes, our study aimed to research unknown ellagitannin structures that appeared during long ageing, and to see how these compounds evolve during cognac eau-de-vie ageing. Finally, this work also aims to investigate the organoleptic impact of these unknown ellagitannins derived-spirit compounds.

Materials and methods

Chemicals

Analytical reagent grade acetone and methanol were purchased from VWR International (Pessac, France). Analytical reagent grade formic acid was purchased from Fisher (Strasbourg, France). Ultrapure water (Milli-Q purification system, Millipore, France) was used. The methanol, water and formic acid used for chromatographic separation were LC-MS grade and purchased from Agilent Chemical (Les Ulis, France).

Cognac eaux-de-vie and sample preparation

Samples

Two series of samples were used in this study. The search for ellagitannin compounds was performed in a vertical series of Cognac eaux-de-vie supplied by Courvoisier (Jarnac, France). This consisted of 19 vintages of eau-de-vie aging in barrels, from 1986 to 2020. The quantities of new ellagitannin compounds were assessed in these samples, and in a second series consisting of 6 different commercial types of Cognac Courvoisier: VS (Very Special), VSOP (Very Superior Old Pale), VSOP exclusif, Napoleon, XO (Extra Old) and Initiale Extra, with two replicates of each Cognac. All these samples were aged in oak wood.

Sample preparation

Given that Cognac is a matrix with high alcohol content (the eaux-de-vie studied here are 63% *v/v* and commercial Cognacs 40% *v/v*), it was necessary to evaporate them under reduced pressure to ensure effective chromatographic separation. 100 mL of Cognac eau-de-vie was evaporated under reduced pressure, and the obtained residue was dissolved in 500 μ L of water and filtered through 0.45 μ m filters. The samples were injected into UPLC-UV-Q-ToF and LC-QQQ using the chromatographic and spectrometric parameters described below. All concentrations were expressed in mg/L. This sample preparation had been developed previously (Gadrat *et al.*, 2021) and allowed the samples to be concentrated two hundred times in order to quantify native C-glucosidic ellagitannins in Cognac eaux-de-vie. However, another method of eau-de-vie sample preparation was also used for quantification of the compounds that were formed because they were less water-soluble, and the new preparative method enabled them to be solubilized (Gadrat *et al.*, n.d.). Each eau-de-vie was also diluted with water by a factor of 5 and filtered through 0.45 μ m filters before injection. The dilution factor was taken into consideration in the calculation of the final concentration.

LC analysis

Two LC systems were used in this study. For the search for new compounds derived from oak native ellagitannins, an Agilent 1290 Infinity UPLC-DAD system was used. The Agilent 1290 Infinity consists of a binary pump (1290 Infinity), a thermostatted column compartment (1290 Infinity Thermostatted Column Compartment), a sample injector (1290 Infinity Autosampler) and a diode array detector (1290 Infinity Diode-Array Detector). For quantification of the

compounds, an HPLC-DAD system was used. It was an Agilent 1200 Infinity series, equipped with a diode array detector.

In both cases, a Kinetex column (150×3 mm, 2.6 μm particle size, Phenomenex, Le Pecq Cedex, France) was used with acidified water at 0.1% formic acid (Eluent A) and acidified methanol at 0.1% formic acid (Eluent B) as mobile phases. The elution gradient employed with the HPLC-DAD has been described in a previous study (Gadrat *et al.*, 2021).

For UPLC-DAD injections, the flow rate was set at 400 μL/min, and the injection volume was 5 μL. The gradient of solvent B was as follows: 2% from 0 to 2 min; 2 to 3% from 2 to 5 min; 3 to 3.5% from 5 to 6 min; 3.5 to 4% from 6 to 7 min; 4 to 4.5% from 7 to 8 min; 4.5 to 5% from 8 to 10 min; 5 to 10% from 10 to 14 min; 10 to 15% from 14 to 17 min; 15 to 20% from 17 to 23 min; 20 to 60% from 23 to 53 min; 60 to 99% from 53 to 60 min; 99% from 60 to 64 min; 99 to 2% from 64 to 65 min and then the HPLC column was equilibrated for 4 min using the initial conditions before the next injection. The DAD signals were carried out at 280 nm wavelength.

High Resolution Mass Spectrometry (HRMS) and QQQ analysis

A 6460 Triple Quadrupole mass spectrometer equipped with a heated electrospray ionization probe (both from Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) connected to the HPLC system via the DAD cell outlet was used. The mass analyzer was calibrated each week using an ESI-L Low Concentration Tuning Mix (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). To perform the quantification of ellagitannins in the spirits, the ionization and spectrometric parameters were optimized in negative mode: gas temperature and flow were 350 °C and 5 L/min, respectively; sheath gas temperature and flow were 250 °C and 10 L/min, respectively; capillary voltage was 4500 V and the cell accelerator voltage was 8 V. All data was processed using MassHunter Qualitative Analysis software (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) (Gadrat *et al.*, 2021).

The UPLC system was connected to an ESI-Q-TOF-MS (Agilent 6530 Accurate Mass). To perform targeted screening, the ionization and spectrometric parameters were optimized in negative mode: gas temperature and flow were 350 °C and 9 L/min, respectively; sheath gas temperature and flow were 350 °C and 11 L/min, respectively; capillary voltage was 4500 V. A mass range of 100–3000 Th was acquired in full scan MS mode. For a simple identification the fragmentor voltage was fixed at 150 V and the collision energy used for MS2 varied between 30 and 40 according to the compounds. The data obtained were analyzed by MassHunter Qualitative Analysis software (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany).

Model solution of eau-de-vie

As Cognac eau-de-vie is a complex matrix, a model solution of eau-de-vie was used to purify new C-glucosidic ellagitannin-derived compounds. For this purpose, native ellagitannins from oak wood were extracted by solid-liquid extraction. Untoasted oak sawdust was placed in a mixture of 70% Acetone/ 30% milliQ water and the whole was placed on a stirring table and stirred at a speed of 220 rpm for 3 days. The macerate was then filtered and evaporated to dryness to be solubilized in milliQ water and freeze-dried, resulting in a dry extract of wood loaded with ellagitannins. Finally, 29 g of wood dry extract were obtained, containing 3 g of the eight oak wood native ellagitannins. The latter was placed in a 1 L of 60% ethanol hydroalcoholic solution to return to eau-de-vie conditions during barrel aging. The model solution was placed in an oven at 50 °C. The evolutionary kinetics of the new compounds were followed for several weeks through HPLC-QQQ injections and the model solution was finally freeze-dried in order to obtain a dry extract loaded with the ellagitannin-derived spirit compounds.

Hemisynthesis of whiskey tannins from pure vescalagin and castalagin

The hemisynthesis of the different forms of whiskey tannins was carried out using 1 mg of castalagin and 1 mg of vescalagin purified in the laboratory at the same time as the purification of the ellagitannin-derived spirit compounds. Each of these compounds was placed in 1 mL of 63% (v/v) unwooded eau-de-vie, and both mixtures were placed in the oven at 50 °C. After 3 days, both solutions were analysed by HPLC-QQQ. Each sample was diluted with water by a factor of 5 and filtered through 0.45 µm filters before injection.

Fractionation of eau-de-vie model solution

Once the dry extract of the model solution of eau-de-vie was obtained, the extract powder (1 g per fractionation) was dissolved in a 70% methanol/30% milliQ water + 0.4% formic acid mixture. This mixture was then loaded onto a Toyopearl TSK HW-50F gel column (d: 2 cm, h: 28 cm) (Tosoh, Tokyo, Japan). The elution solvent was the same as that used for solubilizing the extract for 30 min. Then an elution gradient of 0-70% acetone for four hours was used for fractionation at a flow rate of 1 ml/min. Fractions were collected every 30 min and each of the different fractions was evaporated to dryness separately and resolubilized in 1 mL of milliQ water acidified with 0.1% of formic acid for subsequent purification in semi-preparative HPLC.

Isolation of new compounds by semi-preparative HPLC

A Varian 25 semi-preparative HPLC system was used, consisting of two pumps (model 210), an automatic sample injector (Varian ProStar Model 335) and a diode array detector. An external 2 ml manual injector was used for injection. The whole system was controlled by Varian Star software. Manual injection volumes varied from 100 to 500 μ L. The semi-preparative column was a XSelect HSS T3 OBD column (250 x 10 mm, 5 μ m) from Waters. UV detection was set at 280 nm. The mobile phases were solvent A (milliQ water acidified to 0.1% formic acid) and solvent B (methanol acidified to 0.1% formic acid) with a flow rate of 4 ml/min. Fraction 7 of the TSK fractionation was further injected in order to purify the compound of interest with the following solvent B elution gradient: 0 min, 1%; 2 min, 1%; 5 min, 10%; 30 min, 36%; 45 min, 55%; 46 min, 99%; 50 min, 99%; 51 min, 1%; 60 min, 1%.

The compound was collected manually, evaporated under vacuum, and then taken up in milliQ water acidified with 0.1% formic acid. The purity of the compound was then checked by injecting it into the HPLC-DAD-QQQ system described above. The fractions were finally freeze-dried in order to obtain the compound referred to as brandy tannin B (5 mg) as a pale-yellow amorphous powder: $[\alpha]_D^{25} -74.9$ ($c = 0.1$) HRMS m/z 1005.1212 $[M - H]^-$ ($C_{45}H_{33}O_{27}$, 0.29 ppm); 1H NMR [D_2O /acetone- D_6 (8:2, v/v) + 0,02% TFA- D_4 , 600 MHz] δ 1.02 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 3.47 – 3.60 (m, 1H), 3.97 (dd, $J = 12.5, 4.6$ Hz, 1H), 4.14 (qq, $J = 5.8, 3.4$ Hz, 2H), 4.33 (s, 1H), 4.71 (dd, $J = 12.5, 5.3$ Hz, 1H), 5.15 (s, 1H), 5.30 (dt, $J = 8.2, 4.9$ Hz, 1H), 5.34 (s, 1H), 5.38 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.42 (dd, $J = 8.2, 6.6$ Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.87 (s, 1H); ^{13}C NMR [D_2O /acetone- D_6 (8:2, v/v) + 0,02% TFA- D_4 , 150 MHz] δ 202.4, 169.8, 169.4, 168.5, 168.1, 167.2, 162.8, 157.2, 146.1, 145.3, 145.1, 144.9, 144.7, 144.2, 144.1 (2C), 142.9, 136.9, 136.5, 135.9, 135.6, 125.3, 124.2, 124.0, 123.9, 115.0, 114.6, 114.1, 113.5, 110.9, 108.4 (2C), 108.0, 84.5, 80.1, 70.2, 70.0, 69.4, 66.6, 66.1, 64.4(2C), 45.3, 14.7, 13.5 (Table S1 in the supplementary data V).

NMR analysis

All 1D and 2D NMR experiments were carried out on a Bruker Avance III 600 MHz NMR spectrometer equipped with a 5 mm PA BBI probe (Bruker, Wissembourg, France). All NMR spectra were acquired at 298.15 K in an 8:2 D_2O / acetone- D_6 + 0.2% TFA- D_4 solvent mixture and were calibrated using residual undeuterated acetone as an internal reference (1H δ 2.05 ppm; ^{13}C δ 29.8 ppm). The following abbreviations were used to describe the multiplicities: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet. Structural assignment was achieved

through two-dimensional ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, and ^1H - ^{13}C HMBC experiments. Data were processed using the MestreNova software package.

Quantitation of compounds

Stock solutions composed of β -1-*O*-ethylvescalagin, the two isomers whiskey tannin B1 and B2, and brandy tannin B (1 g/L) were purified in the laboratory and solubilized in methanol. The calibration range for each compound was prepared by successive dilutions in 60% (v/v) non-wooded Cognac eau-de-vie adjusted to 12% (v/v) with milliQ water acidified with 0.1% of formic acid. The calibration curves were performed between 0.1 mg/L to 20 mg/L. The concentrations of β -1-*O*-ethylvescalin were expressed as β -1-*O*-ethylvescalagin equivalents. The concentrations of brandy tannin A were expressed as brandy tannin B. In the same way, the concentrations of whiskey tannins A1 and A2 were expressed as whiskey tannins B1 and B2 equivalent. The quantification of each compound was performed using their deprotonated molecular ion ($[\text{M}-\text{H}]^-$) (Figure S1 in the supplementary data I).

Sensory analysis

The sensory evaluation of brandy tannin B was performed in a standardized room, at room temperature (around 20 °C) (ISO-8589,1988). For the tasting session, ISO glasses (ISO-3591:1977) containing 20 mL of liquid and coded with random three-digit numbers were used. The session was conducted in individual tasting booths, and strict sanitary rules were imposed in the context of the Covid-19 pandemic. Each taster had his or her own tasting glasses, the booths were disinfected before and after each tasting, hydroalcoholic gel was available at the entrance to the room and the glasses were also soaked in technical ethanol after each dishwasher. The panel was composed by 24 judges (16 women and 8 men). Everybody had either an oenology degree or equivalent or was working at the Institut of Vine and Wine Sciences of Bordeaux University (France) and agreed to take part in the sensory tests. A triangular test (ISO-4120:2004) was carried out to explore the incidence of the newly-identified compound. Three glasses were presented, two of them containing non-wooded Cognac eau-de-vie, and the third containing the same eau-de-vie supplemented with 5 mg/L of brandy tannin B. The panel was asked to note the sample that was perceived as different from the others. If a difference was found, they were allowed to describe the perceived difference.

Statistical Treatment

Triangular test results were interpreted using the theory of probability, the correct number of answers act in accordance with a binomial distribution ($n, p = 1/3$), where n is the panel size. Samples were regarded as differently perceived for a probability lower than 5%.

Results and discussion

Structural elucidation of brandy tannin B

The evolution of ellagitannins has been studied in Cognac eaux-de-vie ranging from 2020 to 1986. It has been observed that from the very first years, the native ellagitannins are transformed, and new compounds formed.

In order to understand the evolution mechanisms of native ellagitannins, investigation of their ellagitannin-derived spirit compounds was first based on their MS-MS fragmentation pattern. Vescalagin has two major fragments which are m/z 631 [M-H]⁻ for vescalagin and m/z 301 [M-H]⁻ resulting from the cleavage of the 4,6-hexahydroxydiphenoyl unit forming ellagic acid after bislactonization.

One of the ellagitannin-derived spirit compounds found by UPLC-UV-Q-ToF exhibited [M-H]⁻ ion at m/z 1005.1212 and was fractionated by MS-MS in order to confirm the presence of hexahydroxydiphenoyl moieties on its structure. This compound was selected because it was present during long barrel aging and therefore relatively stable over time. The fragmentation spectrum is represented in Figure S2 in the supplementary data II. The main ion fragment m/z 300.9970 which corresponds to ellagic acid, as well as m/z 249.0406 and m/z 275.0202 that may correspond to 2,2',3,3',4,4'-hexahydroxydiphenyl and 3,4,8,9,10-pentahydroxydibenzo[b,d]pyran-6-one, respectively were observed. These three ion fragments are characteristics of the C-glucosidic ellagitannins (Bowers *et al.*, 2018). Therefore, this new compound is a C-glucosidic ellagitannin-derived spirit compound.

Since aged Cognac eau-de-vie is a very complex matrix, a 60% v/v model solution of eau-de-vie enriched with dry wood extract was used in order to isolate this new compound. For this purpose, a solid-liquid extraction of the ellagitannins from oak wood was carried out and 29 g of wood dry extract were obtained, containing 3 g of the eight oak wood native ellagitannins. All the wood extract was therefore macerated in 1 L of model solution.

The evolution kinetics of the eight native ellagitannins and the formation of the ellagitannin-derived spirit compounds were tracked during 4 weeks in the oven at 50 °C. It was observed

that the eight native ellagitannins in the model solution were transformed rapidly. These results suggest that ellagitannins undergo structural changes from the first contact with the eau-de-vie matrix. Formation of the m/z 1005.1212 compound takes place as soon as the ellagitannins are in the model solution, so the reactions leading to the formation of this compound take place very quickly when the media is heated.

Although the model solution of eau-de-vie supplemented with ellagitannins is a simpler matrix than Cognac eaux-de-vie, it is still very complex, and purification of the new compound remains difficult and required multiple steps. Therefore, further fractionation of this extract was necessary. The dry extract of the model solution was fractionated by elution through a HW TSK-50F gel column and eight fractions were obtained. Fraction 7 was the richest in m/z 1005.1212 compound and this fraction was subsequently injected in semi-preparative HPLC for further purification (Figure S3 in supplementary data III). The compound obtained (5 mg) with a high purity level (95%) was characterized by NMR spectroscopy in order to elucidate its structure. A rapid comparison of its ^1H NMR spectrum with that of the brandy tannin A (Gadrat et al., n.d.) clearly indicated that both compounds are closely related analogues. Two diagnostic triplets ($J = 7$ Hz) resonating at 1.02 and 1.09 ppm, and each integrating for three protons, were also observed to correlate, respectively, with two diastereotopic methylene protons resonating between 3.47 and 3.60 ppm, and with another set of methylene protons at 4.14 ppm in the COSY data map (supplementary data V). These signals emanate from the ethoxy units of an ethyl ether function ($\text{H1}''$ and $\text{H2}''$) at C1 of the open-chain glucosidic core of the compound and of an ethyl ester function ($\text{H1}'''$ and $\text{H2}'''$) on a cyclopentenone moiety. The presence of these structural elements was confirmed by interpretation of the $^{13}\text{C}/\text{DEPT135}$ and 2D correlation (*i.e.*, COSY, HSQC, HMBC) NMR data (*vide infra*), as well as by comparison with the NMR data of brandy tannin A (Gadrat et al., n.d.).

The most striking difference between the ^1H NMR spectrum of this compound and that of brandy tannin A was the observation of three aromatic singlet signals resonating at 6.62, 6.66 and 6.87 ppm instead of just one for brandy tannin A. These three signals were respectively assigned to resonances of $\text{H2}'_{\text{IV}}$ (correlating with the carbonyl C_{IV} at 169.4 ppm), $\text{H6}'_{\text{III}}$ (correlating with the carbonyl C_{III} at 168.1 ppm) and $\text{H6}'_{\text{V}}$ (correlating with the carbonyl C_{V} at 168.5 ppm), hence indicating the presence of a 4,6-HHDP unit (*i.e.*, galloy-derived rings IV and V). Thus, our compound would be the vescalagine-derived analogue of the vescaline-derived brandy tannin A.

Although its ^{13}C NMR spectrum showed 46 distinct resonances, two of those signals at 64.4 and 144.1 ppm were both assigned to two different carbon centers (Table S1 in the

supplementary data V), and five signals could not be clearly assigned, some obviously due to some impurities. Even though this ^{13}C NMR spectrum was not of the highest quality, the DEPT135 and 2D correlation data confirmed the presence of the three methylene units (C1'''' and the primary alcoholic carbon center C6 of the glucosidic core, both resonating at 64.4 ppm, and C1'' at 66.1 ppm), the presence of seven carbonyl carbons, five of which being attributed to the ester carbons C_I to C_V at 162.8, 167.2, 168.1, 169.4 and 168.5 ppm and respectively correlating with proton signals of the glucosidic core at 5.15 ppm (H2), 5.38 ppm (H3), 5.30 ppm (H5), 3.97 and 4.71 ppm (H6's), and 5.42 ppm (H4). A sixth carbonyl carbon resonating at 169.8 ppm and 3J -correlating with the methylenic protons H1'''' and with the cyclopentenone H5'_I (singlet at 5.34 ppm) was assigned to that of the ester function at the C4' center of the cyclopentenone ring I, and the seventh signal at 202.4 ppm was assigned to the ketone carbon (C3'_I) of that same ring I, also 3J -correlating with H5'_I. This proton attached to the aliphatic C5'_I resonating at 45.3 ppm (HSQC data) was also observed to correlate with the olefinic carbon C2'_I (3J) at 157.2 ppm, the tertiary alcoholic C4'_I (2J) at 84.5 ppm, and the aromatic carbons C-1'' (3J) at 123.9 ppm and C-2'' (2J) at 110.9 ppm. Finally, the α -orientation of H1 at C1 of the glucosidic core was attributed on the basis of the lack of observable 3J coupling constant with the adjacent H2 (Quideau *et al.*, 2005). The only structural elements that could not be unambiguously determined from our data are the configurations of the C4' and C5' centers of the cyclopentenone ring I. Nevertheless, the ensemble of the data we could gathered on this ellagitannin-derived spirit compound strongly indicates that it is indeed the vescalagine-derived analogue of brandy tannin A, and for which we thus propose the name brandy tannin B.

Furthermore, it could be observed that ion fragment m/z 703.1125 on the fragmentation spectrum corresponded to the cleavage of the 4,6-HHDP unit of this brandy tannin B, which then leads to formation of the fragment at m/z 300.9970 (Figure S4 in supplementary data IV). This fragment at m/z 703.1125 thus corresponds to the brandy tannin A compound recently isolated from Cognac eau-de-vie (Gadrat *et al.*, n.d.). It is therefore fully plausible that brandy tannin B was generated through oxidation of β -1-*O*-ethylvescalagin (Figure 3). This vescalagin ether derivative is the product of the nucleophilic substitution reaction between ethanol and vescalagin at its C-1 position (Quideau *et al.*, 2005a). As in the case of whiskey tannin B (Fujieda *et al.*, 2008), the pyrogallol ring attached to the glucose C-1 position is then oxidized into an α -hydroxy-*ortho*-quinone **A**, onto which ethanol can be added to form the hemiketal **B**. A benzylic acid-type rearrangement may finally lead to the formation of the ethoxycarbonyl cyclopentenone moiety of brandy tannin B (Figure 3). Formation of brandy tannin A may then

result from solvolysis (i.e., via nucleophilic addition of water and/or ethanol) of brandy tannin B, although a similar oxidative pathway starting from β -1-*O*-ethylvescalin, detected here at m/z 659.1, could also give rise to brandy tannin A formation, as also depicted in Figure 3.

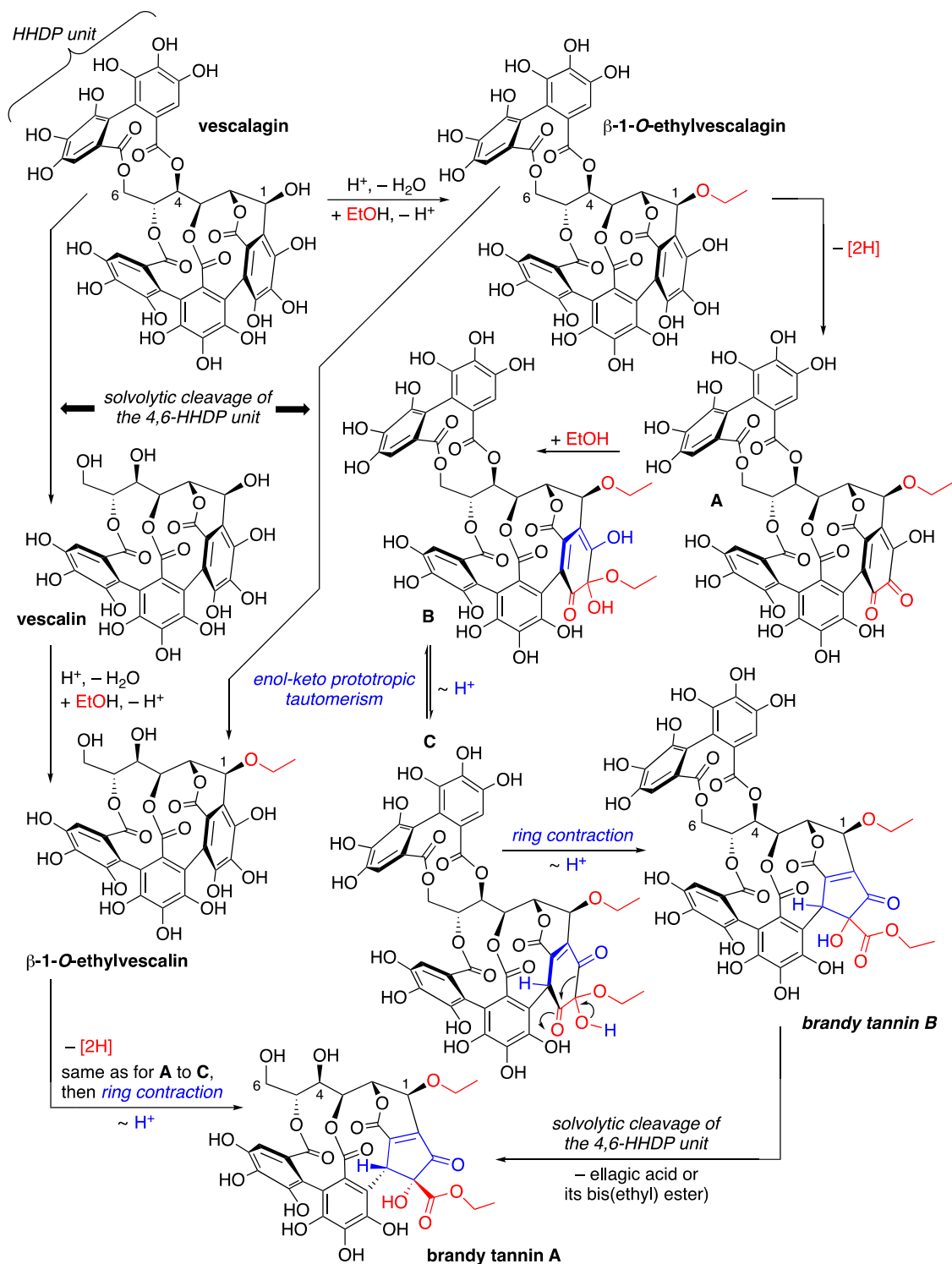


Figure 3. Mechanistic depiction of the formation of brandy tannins B and A.

Kinetic evolution of ellagitannin-derived spirit compounds in various vintages of Cognac eaux-de-vie

The 8 main native *C*-glucosidic ellagitannins that are initially extracted from oak wood during the aging of spirits disappeared very rapidly. During the first year, the 8 ellagitannins are still present and quantifiable, but after the second year, only vescalagin and castalagin are present in traces. In view of the chemical transformations that take place in Cognac eaux-de-vie, notably through oxidation phenomena, we were interested in identifying β -1-*O*-ethylvescalagin in the eaux-de-vie, since it has been neither identified nor quantified in this matrix, and in observing its evolution during aging. This compound was identified and quantified for the first time in Cognac eaux-de-vie, along with β -1-*O*-ethylvescalin, which could result from the hydrolysis of β -1-*O*-ethylvescalagin. Figure 4A shows the concentrations of β -1-*O*-ethylvescalagin and β -1-*O*-ethylvescalin for 18 vintages (1986-2020) of eaux-de-vie coming from the same distillery. 2020 corresponds to one year eau-de-vie and 1986 corresponds to a 35 year eau-de-vie.

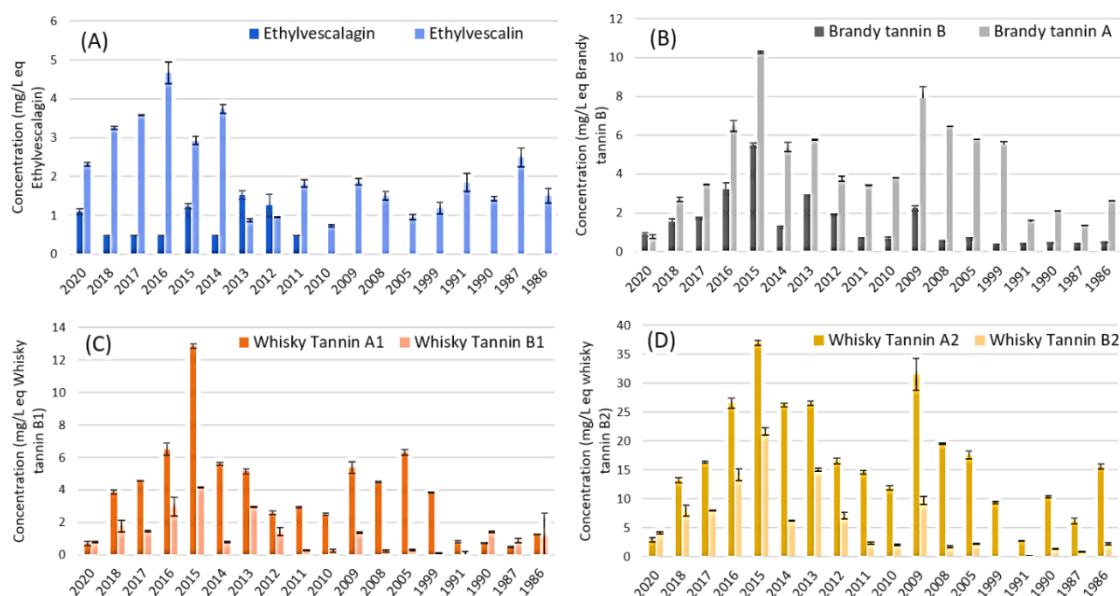


Figure 4. Concentrations of ethylvescalagin and ethylvescalin (A), brandy tannins (B), whiskey tannins A1 and B1 (C) and whiskey tannins A2 and B2 (D) for 18 vintages of Cognac eau-de-vie.

Two bottles of each vintage were taken from the barrels, meaning that the error bars represent the standard deviation of the duplicate analyses. It seems that β -1-*O*-ethylvescalagin is formed very quickly in Cognac eaux-de-vie, as its concentration for the 2020 vintage is 1.1 mg/L (Figure 4A). Studies in red wine have shown that this compound was present at 0.86 mg/L in a 12-month-old wine aged in new French barrels (Jourdes *et al.*, 2011), and at 0.85 mg/L in an 18-month-old red wine also aged in barrels (Saucier *et al.*, 2006). Therefore, β -1-*O*-

ethylvescalagin concentrations are slightly higher in Cognac eaux-de-vie than in red wines during barrel aging. However, it looks like this compound also hydrolyses rapidly and undergoes transformations, because it is no longer present after 10 years of eaux-de-vie aging (vintage 2010). Furthermore, during the first 10 years of aging, β -1-*O*-ethylvescalin concentrations follow in a bell shape, with concentrations ranging from 2.31 mg/L (vintage 2020) to 0.73 mg/L (vintage 2010), with a maximum of 4.66 mg/L (vintage 2016) (Figure 4A). In the vintages where the β -1-*O*-ethylvescalagin concentration is lowest, the concentration of β -1-*O*-ethylvescalagin is highest and *vice-versa*. Figure 4B shows the concentrations of brandy tannins B and A for the same 18 vintages. These two compounds appear to be stable over time as they are still present in a 35-year-old eaux-de-vie. The concentrations of brandy tannin B varied from 0.90 mg/L (vintage 2020) to 0.5 mg/L (vintage 1986). Those of brandy tannin A are always higher, except in the first year of aging, ranging from 0.77 mg/L (2020) to 2.58 mg/L (1986). This is expected as brandy tannin B is certainly hydrolyzed (or ethanolyzed) during aging into brandy tannin A. Brandy tannin B evolution follows the same trend as that of its hydrolyzed form, brandy tannin A, during the first 10 years of aging, i.e., their concentrations follow a bell-shaped curve. These results are in line with those presented by Winstel *et al.*, (2022), who also observed this behavior trend when quantifying brandy tannin A in eaux-de-vie from 10 vintages between 2015 and 1970. Brandy tannin A levels were around 0.4 mg/L in 2015, with a maximum value of 4.2 mg/L in 1995 vintage and the lowest in 1970 with a concentration in the order of 0.7 mg/L. In the present study, the levels of brandy tannin A in 2020 were around 0.77 mg/L and 0.90 mg/L for brandy tannin B, and for both compounds the maximum was reached in 2015 vintage, with concentrations of 10.28 mg/L and 5.50 mg/L for brandy tannins A and B, respectively. Finally, levels were lower in 2010, at 3.82 mg/L for brandy tannin A and 0.69 mg/L for brandy tannin B. After ten years of aging (2010 vintage), brandy tannin B stabilizes and varies only slightly until 1986. Brandy tannin A, on the other hand, follows a bell-shaped curve, peaking again in 2009 (7.91 mg/L), then gradually decreasing until 1999 (5.53 mg/L) and finally falling sharply until the 1986 vintage. The variations in concentrations found in this study may be attributed to different aging processes, depending on the vintages. These factors may influence the extraction potential of the compounds in the barrel from the oak wood. As whiskey tannins have also been described as oxidation products and could also be formed either from castalagin or from vescalagin, it was interesting to compare their evolution in Cognac eau-de-vie, especially as these compounds have never been identified and quantified in Cognac eaux-de-vie. In 2008, when these

compounds were identified, the formation of whiskey tannin B from castalagin was described, as well as its hydrolysis into whiskey tannin A (Fujieda *et al.*, 2008). However, in Cognac spirits, two peaks with deprotonated molecular ion m/z 977 $[M-H]^-$ and two peaks with deprotonated molecular ion m/z 675 were found on the chromatograms.

Based on the exact theoretical mass of whiskey tannin B (m/z 977.0896 for $C_{43}H_{29}O_{27}^-$) and whiskey tannin A (m/z 675.0833 for $C_{29}H_{23}O_{19}^-$) associated with the detected molecular ions m/z 977.0896 (0 ppm) and m/z 675.0833 (0 ppm), as well as on their MS-MS fragmentation pattern which presented identical fragments, it can be suggested that the two compounds of m/z 977.0896 are isomers, as are the two compounds of m/z 675.0833 (Figure 5). These compounds could then be named whiskey tannins B1 and B2, and whiskey tannins A1 and A2 respectively.

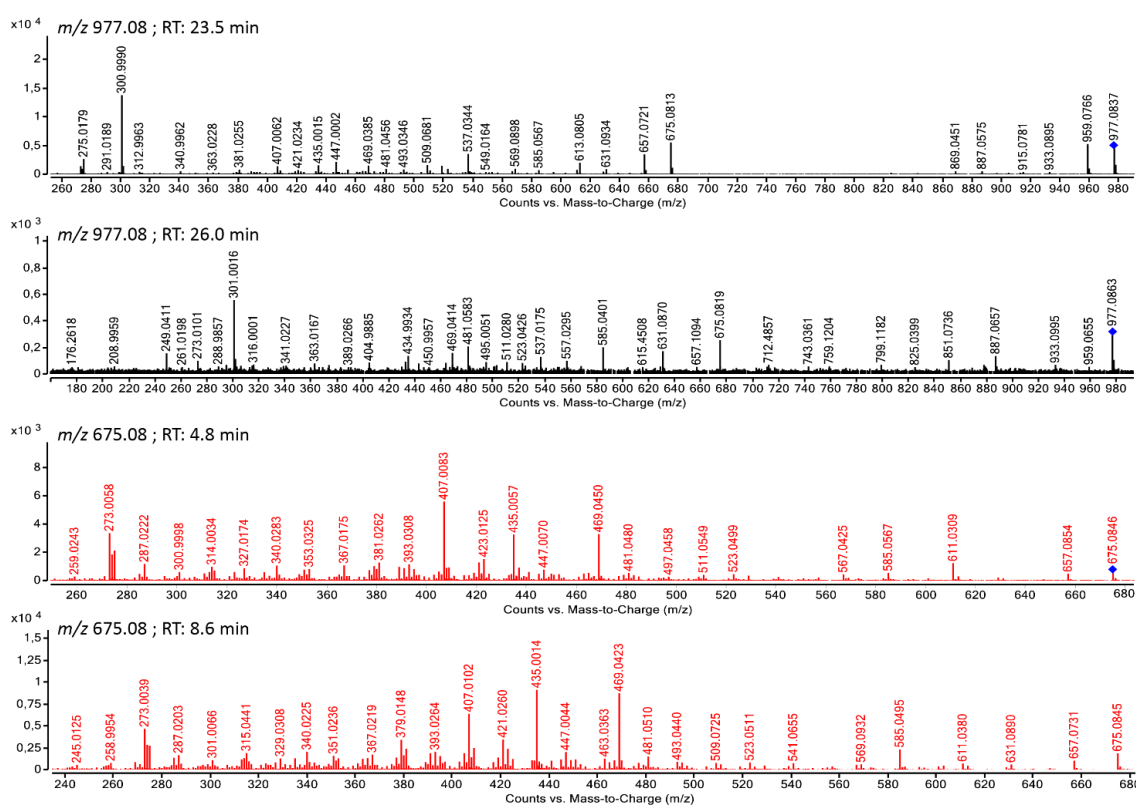


Figure 5. Fragmentation spectrums of molecular ions m/z 977.08 and m/z 675.08 in negative mode obtained with UPLC-UV-Q-ToF.

Fujieda *et al.*, (2008) showed the formation of whiskey tannins only from castalagin but its C1-epimer vesicalagin might also be a precursor of whiskey tannins, as alluded to above. It could thus be hypothesized that whiskey tannins A2 and B2 derived from the oxidation of castalagin and whiskey tannins A1 et B1 from the oxidation of vesicalagin. In order to confirm this hypothesis, two small-scale hemisynthesis reactions were carried out using 1 mg of pure castalagin or 1 mg of pure vesicalagin solubilized in 1 mL of 60% (v/v) non-wooded eau-de-vie. Both solutions were placed in the oven at 50°C and after 3 days, samples were injected into the

HPLC-QQQ. It was observed that in the castalagin-supplemented eau-de-vie, a single peak of whiskey tannin B was formed, with m/z 977 at 26.1 min. While in the reaction mixture containing vescalagin, a peak was also formed, with an m/z 977 at 23.9 min (Figure S5 in supplementary data VI). These two retention times are identical to those found in the Cognac eaux-de-vie. The formation of whiskey tannins A1 and A2 were also observed in each corresponding reaction mixtures (Figure S6 in supplementary data VII). These hemisyntheses using pure vescalagin and castalagin thus support the above hypothesis that the whiskey tannins B2 and A2 could be formed by oxidation of castalagin, while the whiskey tannins B1 and A1 and A1 could be formed from vescalagin (Figure S7 in supplementary data VIII). It seems that the B2 and A2 isomers are more present in the eaux-de-vie than the B1 and A1 isomers. This can be explained by the fact that castalagin is the predominant monomer in the spirits compared to vescalagin, thus leading to the formation of predominantly whiskey tannins B2 and A2. Similarly, as for the other oxidation compounds studied, hydrolyzed forms (whiskey tannins A) predominate over non-hydrolyzed forms. Moreover, these four compounds follow the same curve in the different vintages (Figure 4C and 4D), confirming the trend found for brandy tannins or even β -1-*O*-ethylvescalagin. These are compounds that are stable over time, as they are still quantifiable in the 1986 vintage.

Content of ellagitannin-derived spirit compounds in commercial Cognac

The ellagitannin-derived spirit compounds were also investigated in commercial Cognac to see whether the evolution compounds of the oak native ellagitannins were still present after blending and alcohol content reduction. For this purpose, 6 commercial Cognacs were analyzed in duplicates, each representing a quality of Cognac, ranging from the lowest to the highest. The lowest quality corresponded to a blend of the youngest eaux-de-vie (VS) and the highest to a blend of the oldest eaux-de-vie (Initial Extra). Figure shows the concentrations of the ellagitannin-derived spirit compounds in the 6 commercial Cognacs.

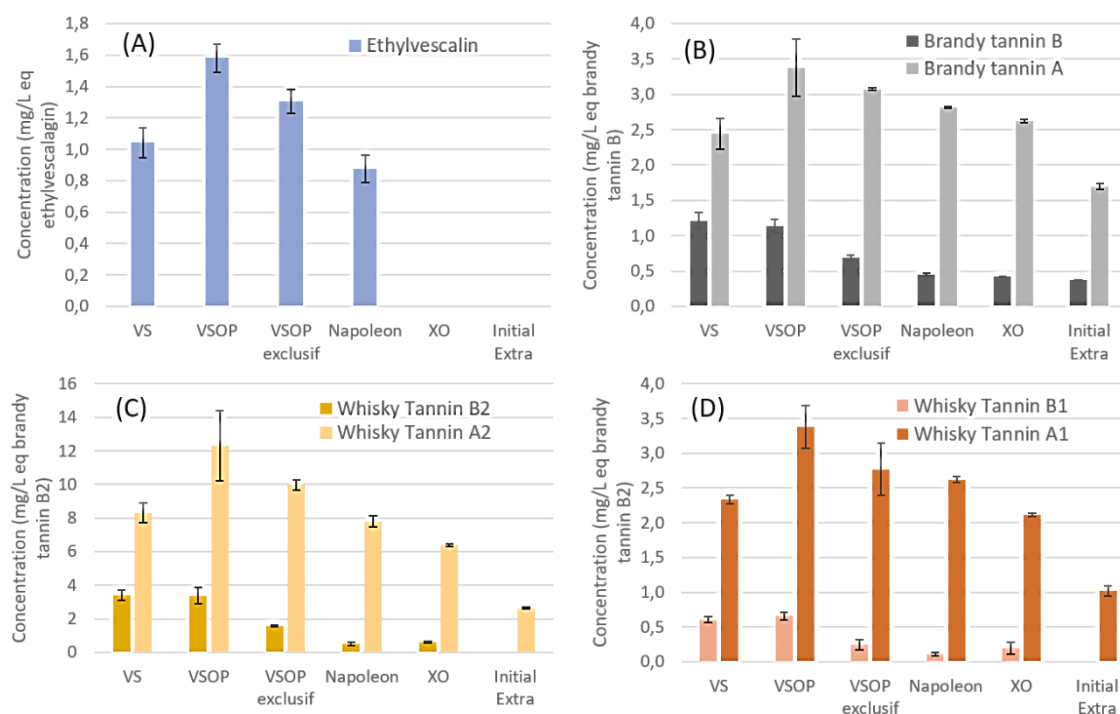


Figure 6. Concentrations of ethylvescalin (A), brandy tannins (B), whiskey tannins B2 and A2 (C) and whiskey tannins B1 and A1 (D) in 6 commercial Cognacs.

It was found that β -1-*O*-ethylvescalagin was not present in commercial Cognacs, unlike its hydrolyzed compound β -1-*O*-ethylvescalin (Figure A). It is possible that this compound may have been completely broken down by hydrolysis or oxidation phenomena over time and therefore no longer present in commercial Cognacs, just like the oak native ellagitanins. β -1-*O*-Ethylvescalin was found in VS to Napoleon Cognacs but was not present in XO and Initial Extra. Its concentrations followed a bell-shaped curve, as for the vintage eaux-de-vie, and varied from 0.87 mg/L to 1.58 mg/L. Brandy tannin A and whiskey tannin A, which are also hydrolyzed forms, all followed the same evolution as β -1-*O*-ethylvescalin, i.e., their maximum concentration was found in the VSOP and then their concentrations decreased in a linear manner in the oldest Cognacs. However, unlike β -1-*O*-ethylvescalin, these compounds were also found in XO and Initial extra. Brandy tannin A has already been quantified in various spirits including commercial Cognacs, and the concentrations found ranged from 0.03 to 7.7 mg/L (Gadrat et al., n.d.). In the present study, the concentrations varied from 1.70 to 3.38 mg/L. These concentrations were also of the same order as those found for whiskey tannin A1. On the other hand, the levels of whiskey tannin A2 reached a concentration of 12.3 mg/L in one of the grades (VSOP). It would be interesting to study their organoleptic impact later, as these compounds could contribute to the taste of the Cognacs, given their high levels in this matrix. Brandy tannin B was also found in all Cognacs, unlike whiskey tannins B1 and B2 that were not present in the

Initial extra. Their levels varied from 0.37 to 1.21 mg/L, which are more than whiskey tannin B1 that did not exceed 0.66 mg/L, and less than the whiskey tannin B2 that reached 3.41 mg/L. As it can be seen in the above figure 6, each spirit quality has its own profile of ellagitannin-derived spirit compounds. For example, Initial Extra did not show the presence of either β -1-*O*-ethylvescalin, or whiskey tannin B, and VSOP presented the highest concentrations of all the hydrolyzed forms of ellagitannin-derived spirit compounds.

Sensory impact of the new ellagitannin-derived spirit compound: brandy tannin B

Some recent studies have shown that oak wood may soften the wine and the spirits due to its natural sweet compounds (Marchal et al., 2011, 2015), however the direct impact of the ellagitannins which consist the major class of oak wood compounds is not really known. In order to see if the new compound has an influence on spirits sensory quality, initially a triangular test was performed to see whether differences were observed from a gustatory point of view between an unwooded eau-de-vie and an unwooded eau-de-vie supplemented with brandy tannin B. A 71% (v/v) non-oaked eau-de-vie adjusted at 40% (v/v) with osmosis water was prepared. Brandy tannin B was dissolved in 40% (v/v) non-oaked eau-de-vie at 5 mg/L. From the triangle test, 13 judges found significant differences when this compound was added to the eau-de-vie ($p \leq 0.05$). This test showed that brandy tannin B could have an organoleptic impact and can impact the taste of the eaux-de-vie. Winstel *et al.*, (2022) has also shown that brandy tannin A influences the taste of brandies, modulating the perception of burning in eaux-de-vie. Although the results concerning the impact of brandy tannin B on the taste balance of barrel-aged eaux-de-vie are only preliminary, they consist the first evidence of their direct organoleptic influence in spirits conditions. To confirm these results, a taste detection threshold should be determined to see the lowest concentration at which this compound has an organoleptic impact. A sensory profile could also be carried out to describe the taste of brandy tannin B.

Conclusion

These results constitute an initial approach of new *C*-glucosidic ellagitannin-derived spirit compounds quantification in Cognac. A purification protocol was established in order to search for ellagitannin-derived spirit compounds, and allowed the identification of a new compound, called brandy tannin B. This compound was isolated from Cognac eaux-de-vie for the first time and was quantified in old both aged eaux-de-vie and commercial Cognacs. It can be formed

during spirits aging in the presence of oxygen from β -1-*O*-ethylvescalagin, another ellagitannin-derived spirit compound, and would in turn undergo further transformations, as its detection follows a bell-shaped curve.

Other oxidation compounds derived from ellagitannins, the known whiskey tannins A and B, were also identified for the first time in Cognac eaux-de-vie. It was also shown that whiskey tannins A and B exist under two isomeric forms. The four whiskey tannins were quantified in this matrix and followed the same trend as the brandy tannins. Both β -1-*O*-ethylvescalagin and β -1-*O*-ethylvescalin were also identified for the first time in Cognac, and their development in this matrix was also studied in order to better understand the formation of brandy tannin B.

The brandy tannin B influences the taste of Cognac eau-de-vie as it had an organoleptic impact. Further sensory analyses are needed with a view to understand profoundly the organoleptic impact of the above studied ellagitannin-derived spirit compounds.

To better evaluate the formation of ellagitannin-derived spirit compounds and their possible transformation in spirits during barrel aging, a more in-depth study with several spirits is needed. It would be interesting to use ellagitannin-derived spirit compounds as markers of spirits aging, and quality.

Acknowledgements

The authors gratefully thank Courvoisier SAS for providing all samples of Cognac “eaux-de-vie” and for their financial support which enabled this work. This work has benefited from the analytical facilities of the CESAMO platform at the University of Bordeaux.

References

- Bowers, J. J., Gunawardena, H. P., Cornu, A., Narvekar, A. S., Richieu, A., Deffieux, D., Quideau, S., & Tharayil, N. (2018). Rapid Screening of Ellagitannins in Natural Sources via Targeted Reporter Ion Triggered Tandem Mass Spectrometry. *Scientific Reports*, 8(1), 10399. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27708-3>
- Canas, S. (2017). Phenolic Composition and Related Properties of Aged Wine Spirits : Influence of Barrel Characteristics. A Review. *Beverages*, 3(4), 55. <https://doi.org/10.3390/beverages3040055>
- Chira, K., Zeng, L., Le Floch, A., Péchamat, L., Jourdes, M., & Teissedre, P.-L. (2015). Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oak wood ellagitannin. *Tetrahedron*, 71(20), 2999-3006. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.02.018>

- Du Penhoat, C. L. H., Michon, V. M., Ohassan, A., Peng, S., Scalbert, A., & Gage, D. (1991). Roburin A, a dimeric ellagitannin from heartwood of *Quercus robur*. *Phytochemistry*, *30*(1), 329-332.
- Ferrari, G., Lablanquie, O., Cantagrel, R., Ledauphin, J., Payot, T., Fournier, N., & Guichard, E. (2004). Determination of Key Odorant Compounds in Freshly Distilled Cognac Using GC-O, GC-MS, and Sensory Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(18), 5670-5676. <https://doi.org/10.1021/jf049512d>
- Fujieda, M., Tanaka, T., Suwa, Y., Koshimizu, S., & Kouno, I. (2008). Isolation and Structure of Whiskey Polyphenols Produced by Oxidation of Oak Wood Ellagitannins. *Journal of agricultural and food chemistry*, *56*, 7305-7310. <https://doi.org/10.1021/jf8012713>
- Gadrat, M., Capello, Y., Emo, C., Lavergne, J., Quideau, S., Jourdes, M., Teissèdre, P.-L. D. de thèse, & Chira, K. (n.d.). Identification, Quantification and Sensory Contribution of New C-glucosidic ellagitannin-Derived Spirit Compounds. *Food Chemistry*, *submitted*.
- Gadrat, M., Lavergne, J., Emo, C., Teissèdre, P.-L., & Chira, K. (2021). Validation of a mass spectrometry method to identify and quantify ellagitannins in oak wood and cognac during aging in oak barrels. *Food Chemistry*, *342*, 128223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128223>
- Glabasnia, A., & Hofmann, T. (2006). 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*, *54*(9), 3380-3390. <https://doi.org/10.1021/jf052617b>
- Jeleń, H. H., Majcher, M., & Szwengiel, A. (2019). Key odorants in peated malt whisky and its differentiation from other whisky types using profiling of flavor and volatile compounds. *LWT*, *107*, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.070>
- Jourdes, M., Michel, J., Saucier, C., Quideau, S., & Teissèdre, P.-L. (2011). 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*, *401*(5), 1531. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4949-8>
- Ledauphin, J., Le Milbeau, C., Barillier, D., & Hennequin, D. (2010). Differences in the Volatile Compositions of French Labeled Brandies (Armagnac, Calvados, Cognac, and Mirabelle) Using GC-MS and PLS-DA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(13), 7782-7793. <https://doi.org/10.1021/jf9045667>

- Marchal, A., Cretin, B. N., Sindt, L., Waffo-Téguo, P., & Dubourdieu, D. (2015). Contribution of oak lignans to wine taste : Chemical identification, sensory characterization and quantification. *Tetrahedron*, 71(20), 3148-3156. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.07.090>
- Marchal, A., Waffo-Téguo, P., Génin, E., Mérillon, J.-M., & Dubourdieu, D. (2011). Identification of New Natural Sweet Compounds in Wine Using Centrifugal Partition Chromatography–Gustatometry and Fourier Transform Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 83(24), 9629-9637. <https://doi.org/10.1021/ac202499a>
- Mayer, W., Gabler, W., Riester, A., & Korger, H. (1967). Über die gerbstoffe aus dem holz der edelkastanie und der eiche, II. Die isolierung von castalagin, vescalagin, castalin und vescalin. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 707(1), 177-181.
- Mayer, W., Seitz, H., & Jochims, J. C. (1969). Über die Gerbstoffe aus dem Holz der Edelkastanie und der Eiche, IV1) Die Struktur des Castalagins. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 721(1), 186-193.
- Mayer, W., Seitz, H., Jochims, J. C., Schauerte, K., & Schilling, G. (1971). Über die Gerbstoffe aus dem Holz der Edelkastanie und Eiche, VI. Struktur des Vescalagins. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 751(1), 60-68.
- Mosedale, J. R., & Puech, J.-L. (1998). Wood maturation of distilled beverages. *Trends in Food Science & Technology*, 95-101.
- Penhoat, C. L. H., & Veronique, M. (1991). Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. roburins A–E. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 7, 1653-1660.
- Puech, J. L., Mertz, C., Michon, V., Le Guernevé, C., Doco, T., & Hervé Du Penhoat, C. (1999). Evolution of castalagin and vescalagin in ethanol solutions. Identification of new derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2060-2066.
- Puech, J.-L. (1981). Extraction and Evolution of Lignin Products in Armagnac Matured in Oak. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32(2), 111-114.
- Puech, J.-L., Feuillat, F., & Mosedale, J. R. (1999). The tannins of oak heartwood : Structure, properties, and their influence on wine flavor. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 469-478. Scopus.
- Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Montaudon, D., Saucier, C., Glories, Y., Pardon, P., & Pourquier, P. (2005a). The Chemistry of Wine Polyphenolic C-Glycosidic Ellagitannins Targeting Human Topoisomerase II. *Chemistry – A European Journal*, 11(22), 6503-6513. <https://doi.org/10.1002/chem.200500428>

- Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Montaudon, D., Saucier, C., Glories, Y., Pardon, P., & Pourquier, P. (2005b). The Chemistry of Wine PolyphenolicC-Glycosidic Ellagitannins Targeting Human Topoisomerase II. *Chemistry - A European Journal*, 11(22), 6503-6513. <https://doi.org/10.1002/chem.200500428>
- Rasines-Perea, Jacquet, Jourdes, Quideau, & Teissedre. (2019). Ellagitannins and Flavano-Ellagitannins : Red Wines Tendency in Different Areas, Barrel Origin and Ageing Time in Barrel and Bottle. *Biomolecules*, 9(8), 316. <https://doi.org/10.3390/biom9080316>
- Saucier, C., Jourdes, M., Glories, Y., & Quideau, S. (2006). Extraction, Detection, and Quantification of Flavano-Ellagitannins and Ethylvescalagin in a Bordeaux Red Wine Aged in Oak Barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7349-7354. <https://doi.org/10.1021/jf061724i>
- Thibaud, F., Courregelongue, M., & Darriet, P. (2020). Contribution of Volatile Odorous Terpenoid Compounds to Aged Cognac Spirits Aroma in a Context of Multicomponent Odor Mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06656>
- Winstel, D., Capello, Y., Quideau, S., & Marchal, A. (2022). Isolation of a new taste-active brandy tannin A : Structural elucidation, quantitation and sensory assessment. *Food Chemistry*, 377, 131963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131963>

Supplementary data

Supplementary Data I

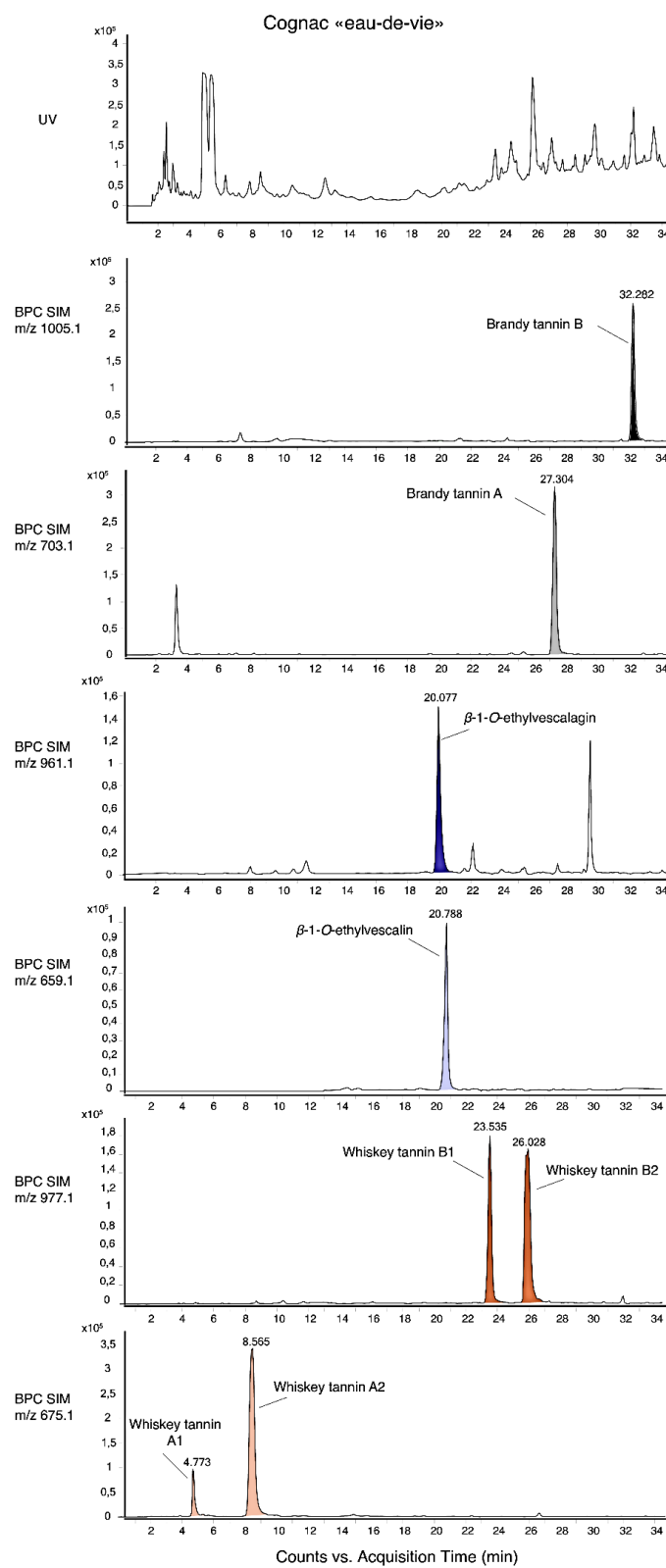


Figure S1. UV chromatogram and negative LC-QQQ of a Cognac eau-de-vie corresponding to $[M-H]^-$ ions of ellagitanins evolutionary compounds.

Supplementary Data II

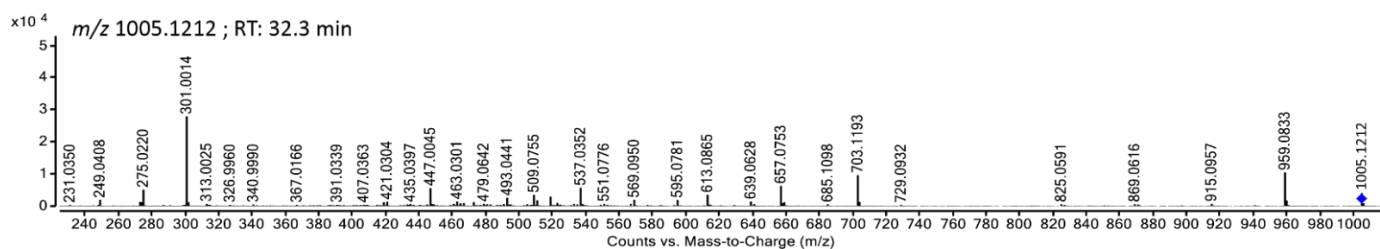


Figure S2. Fragmentation spectrum of molecular ion m/z 1005.1212 in negative mode obtained with UPLC-UV-Q-ToF.

Supplementary Data III

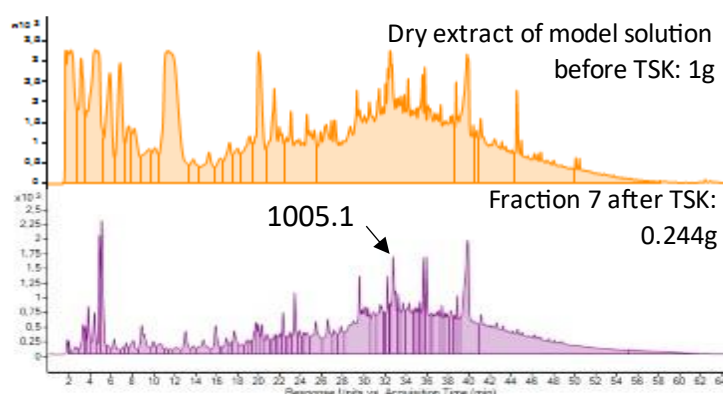


Figure S3. UV chromatograms of the dry extract of model solution before fractionation on TSK gel and fraction of interest (fraction 7) after fractionation on TSK gel.

Supplementary Data IV

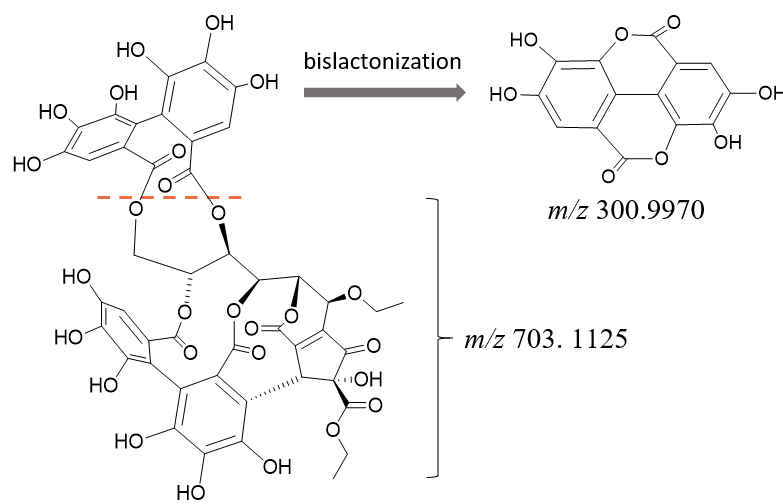
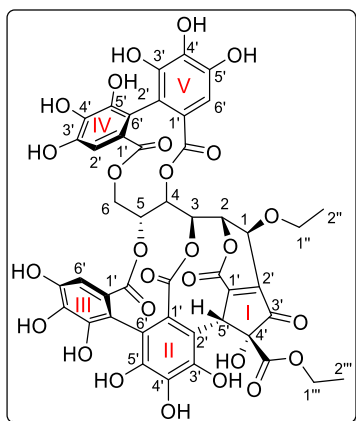


Figure S4. Major fragments of brandy tannin B.

Supplementary Data V



Chemical Formula: C₄₅H₃₄O₂₇

Exact Mass: 1006,1287

Molecular Weight: 1006,7400

Table S1. ¹H and ¹³C NMR signal assignments of brandy tannin B

Position	δ_H (mult., J in Hz)	δ_C (mult.)	HSQC	HMBC / TOCSY
Glucose				
1	4.33 (s)	66.6	C-1	C1 ^{''} , C2, C3, C1 ['] _I , C2 ['] _I , C3 ['] _I
2	5.15 (s)	80.1	C-2	C1, C3, C1 ['] _I , C _I =O
3	5.38 (d, J = 6.7 Hz)	70.0	C-3	C _{II} =O
4	5.42 (dd, J = 8.2, 6.6 Hz)	70.2	C-4	C5, C6, C _V =O
5	5.30 (dt, J = 8.2, 4.9 Hz, 1H)	69.4	C-5	C4, C _{III} =O, H6
6	3.97 (dd, J = 12.5, 4.6 Hz)	64.4	C-6	C5, H5, C _{IV} =O
	4.71 (dd, J = 12.5, 5.3 Hz)			
Cyclopentenone				
1 ['] _I		142.9		H1, H2, H5 ['] _I
2 ['] _I		157.2		H1, H5 ['] _I
3 ['] _I		202.4		H5 ['] _I
4 ['] _I		84.5		H5 ['] _I

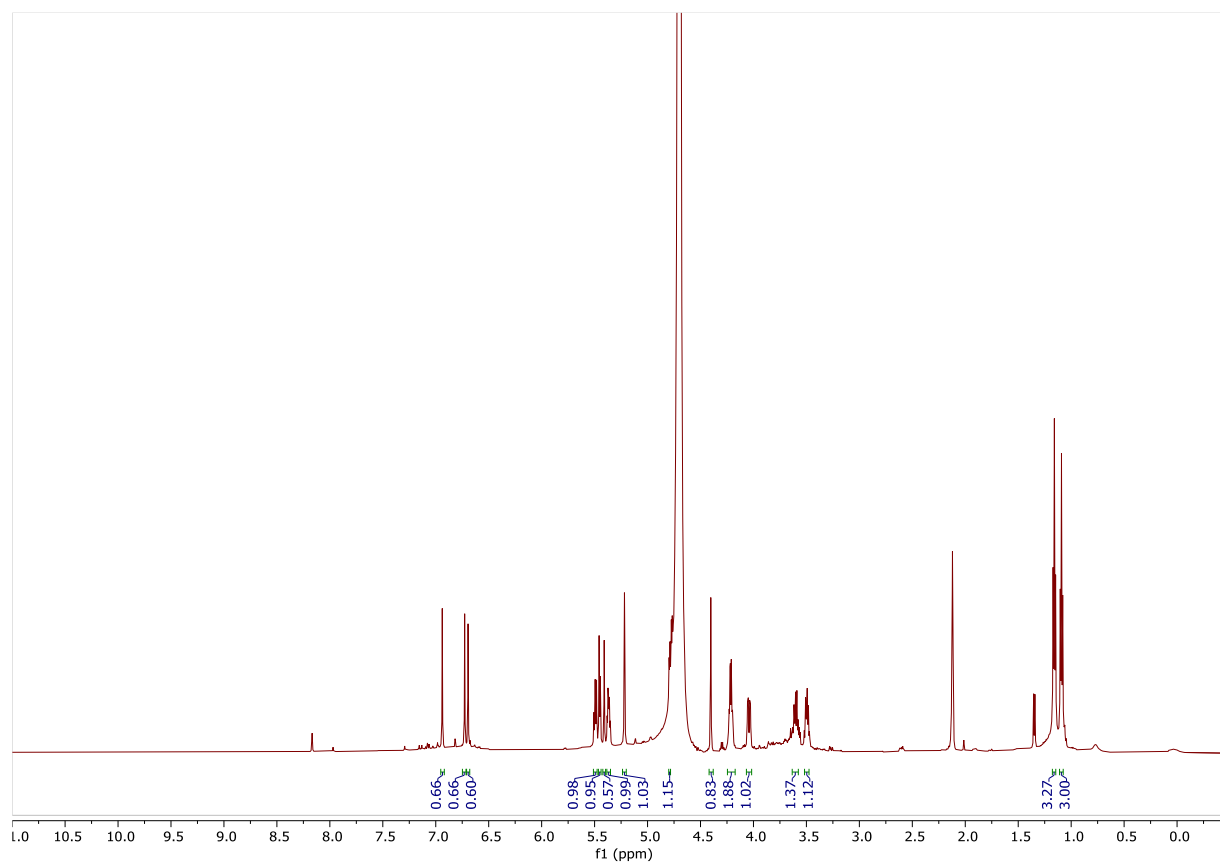
*Chapitre 4 : Recherche des composés d'évolution des ellagitanins dans les eaux-de-vie de
Cognac au cours du vieillissement*

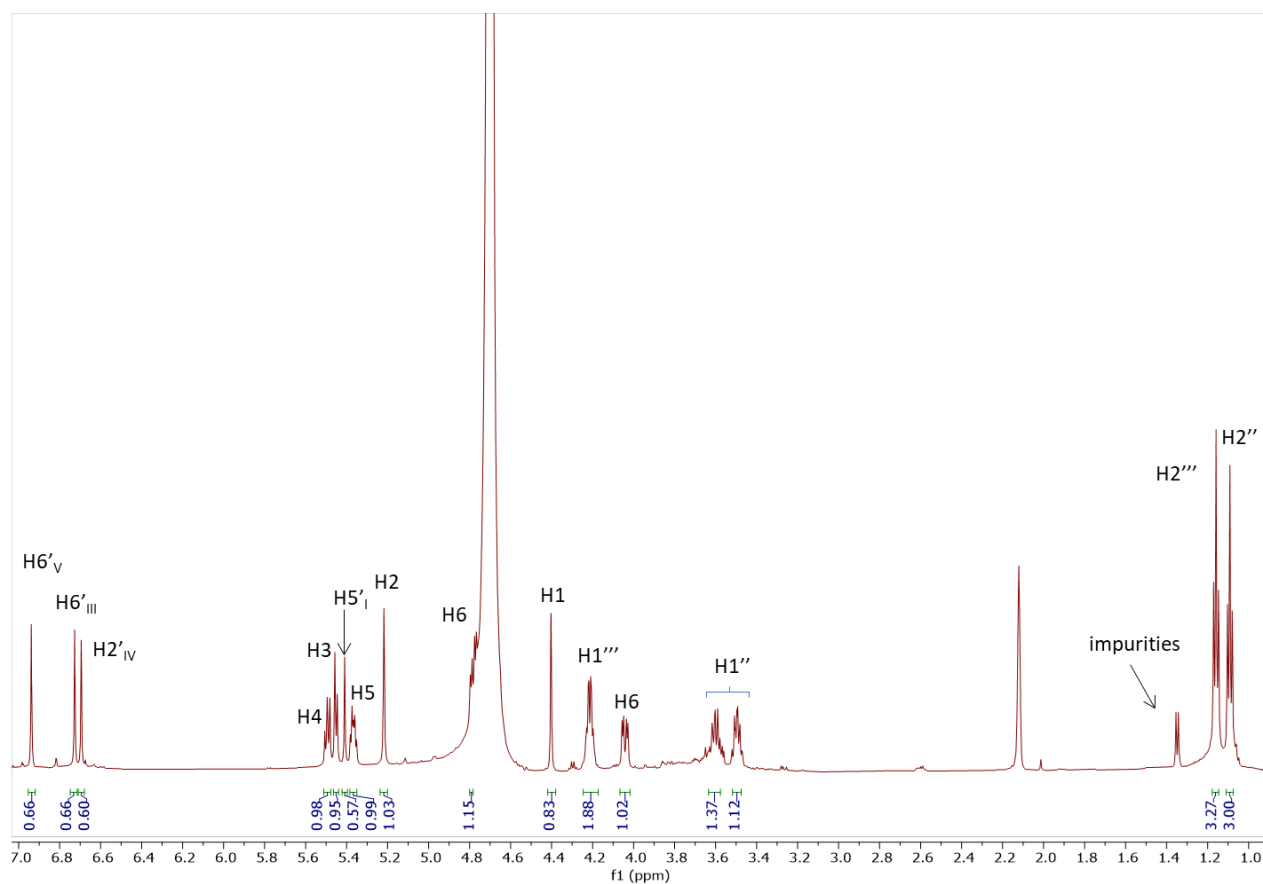
5 _I	5.34 (s)	45.3	C-5 _I	C4 _I , C4 _{II} , C2 _I , C1 _{II} , C2 _{II} , C3 _I , C=O _{ester}
Aromatics				
1 _{II}		123.9		H5 _I
1 _{III} , 1 _{IV} , 1 _V		125.3, 124.2, 124.0		
2 _{II}		110.9		H5 _I , H6 _{III}
2 _{III}		113.5		H6 _{III}
2 _{IV}	6.62 (s)	108.0		C _{IV} =O, C4 _{IV} , C6 _{IV}
2 _V		115.0		H6 _V
3 _{II} , 3 _{III} , 3 _{IV} , 3 _V		136.9, 136.5, 135.9, 135.6		
4 _{II}		146.1		H5 _I
4 _{III}		145.3		H6 _{III}
4 _{IV}		144.9		H2 _{IV}
4 _V		145.1		H6 _V
5 _{II} , 5 _{III} , 5 _{IV} , 5 _V		144.7, 144.2, 144.1 (2C)		
6 _{II}		114.1		
6 _{III}	6.66 (s)	108.4		C _{III} =O, C2 _{III} , C4 _{III}
6 _{IV}		114.6		H2 _{IV}
6 _V	6.87 (s)	108.4		C _V =O, C2 _V , C4 _V
Carbonyls				
C=O _{ester}		169.8		H1 _{''''} , H5 _I
C _I =O		162.8		H2
C _{II} =O		167.2		H3
C _{III} =O		168.1		H5, H6 _{III}
C _{IV} =O		169.4		H6, H2 _{IV}
C _V =O		168.5		H4, H6 _V
Ether				
1 _{''}	3.47 – 3.60 (m)	66.1	C-1 _{''}	H2 _{''} , C2 _{''}
2 _{''}	1.02 (t, <i>J</i> = 7.0 Hz)	14.7	C-2 _{''}	H1 _{''} , C1 _{''}
Ester				

Chapitre 4 : Recherche des composés d'évolution des ellagitanins dans les eaux-de-vie de Cognac au cours du vieillissement

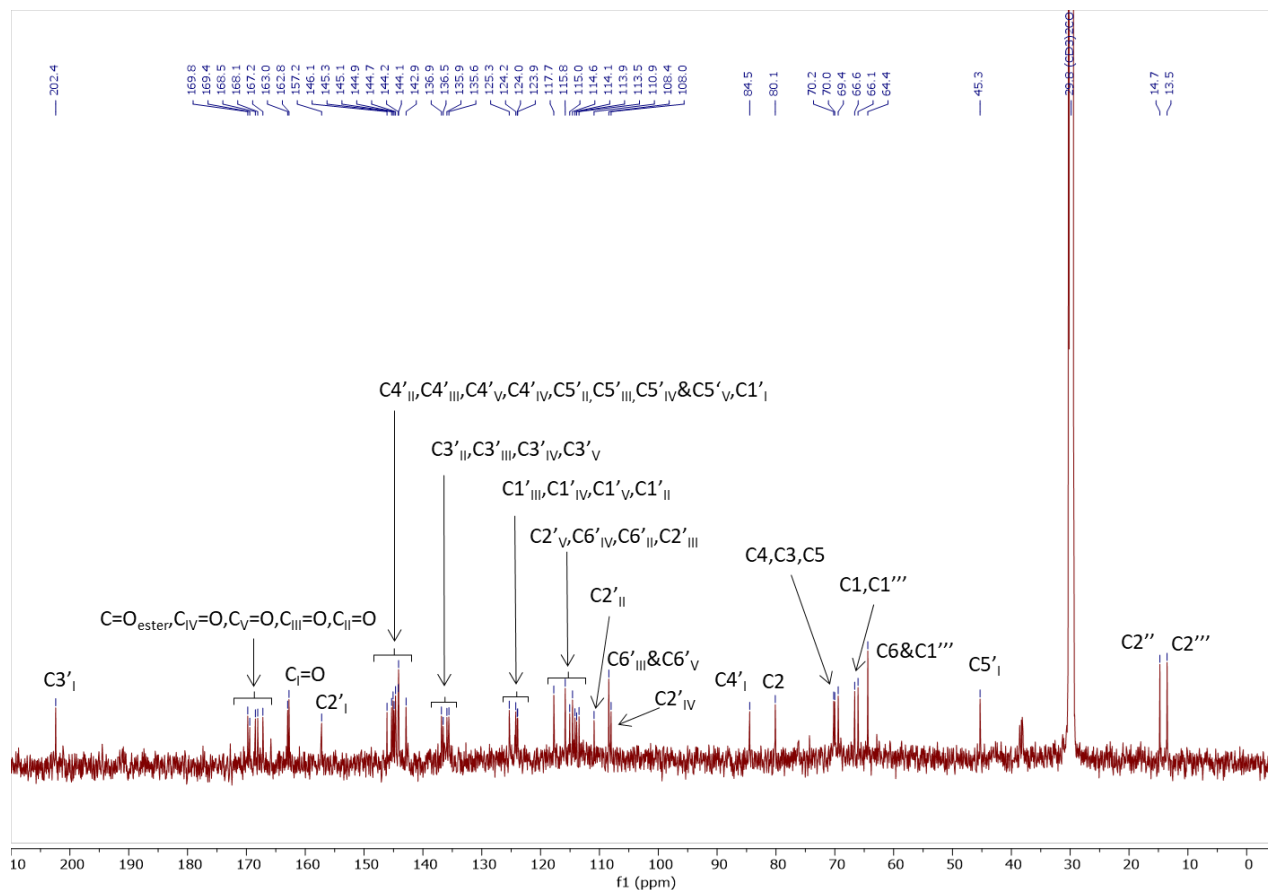
1 ^{''''}	4.14 (qq, J= 5.8, 3.4 Hz)	64.4	C-1 ^{''''}	H2 ^{''''} , C2 ^{''''} , C=O _{ester}
2 ^{''''}	1.09 (t, J = 7.1 Hz)	13.5	C-2 ^{''''}	H1 ^{''''} , C1 ^{''''}

¹H NMR spectrum

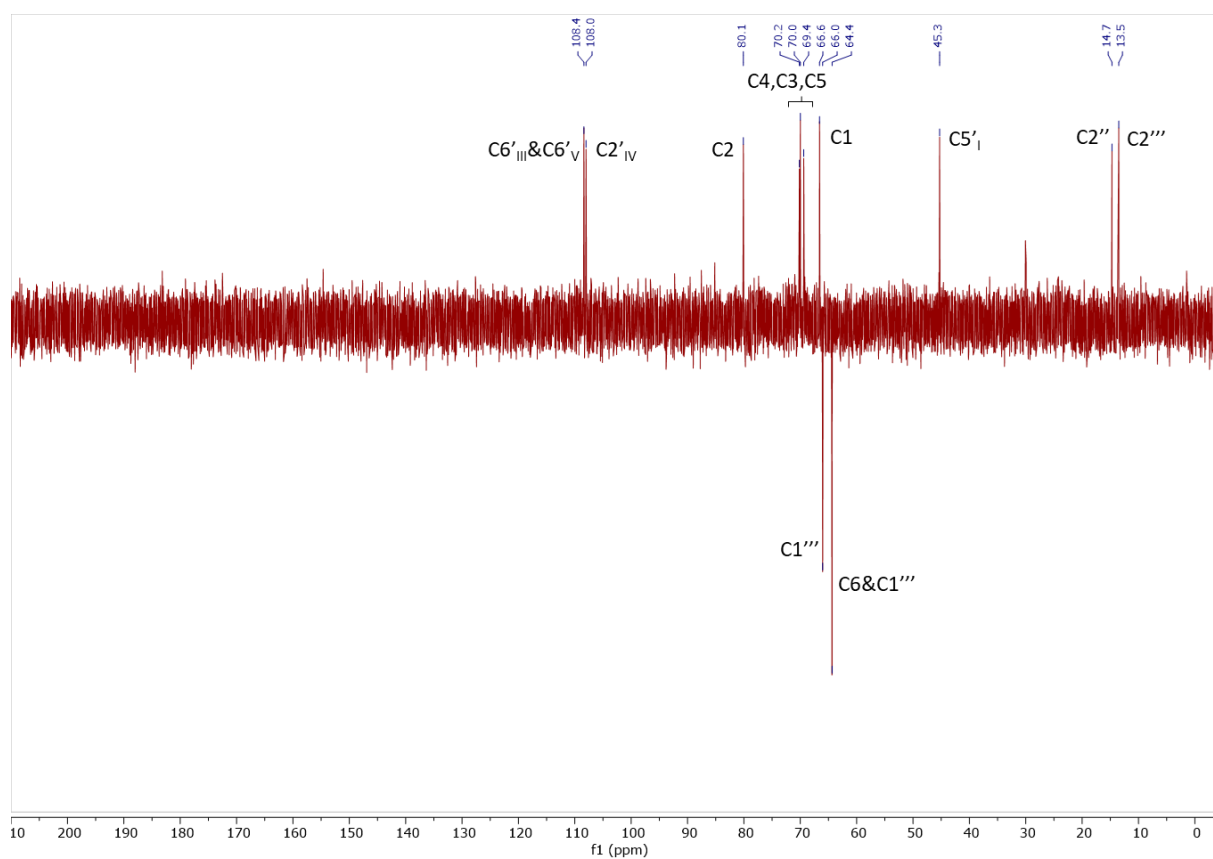




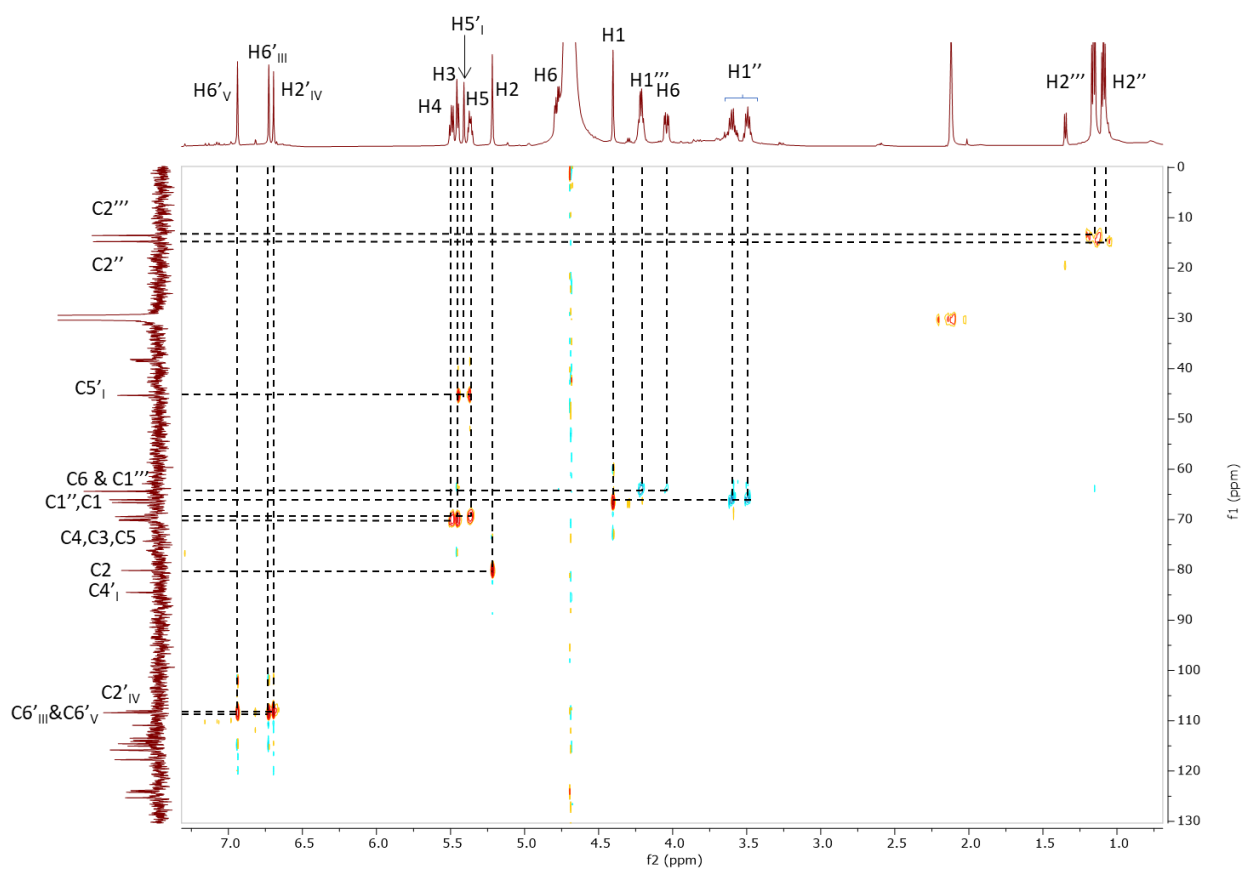
¹³C NMR spectrum



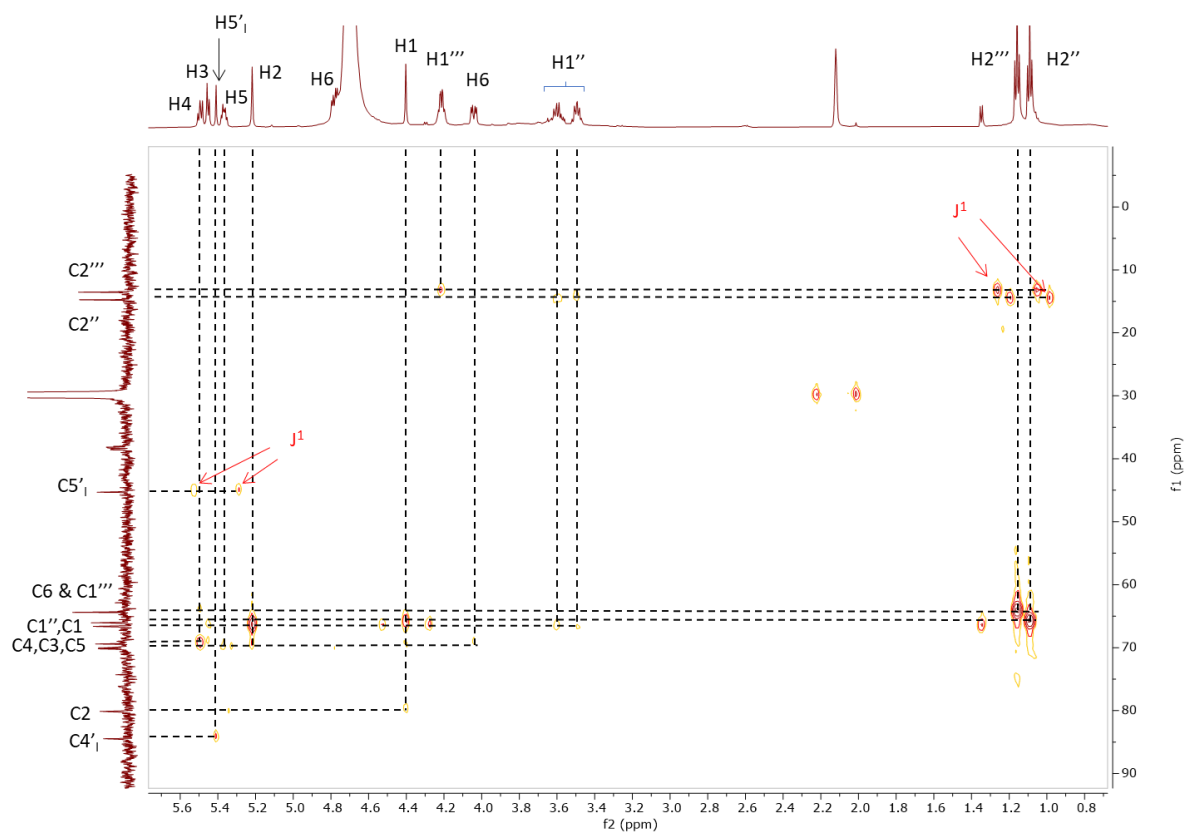
DEPT135 spectrum



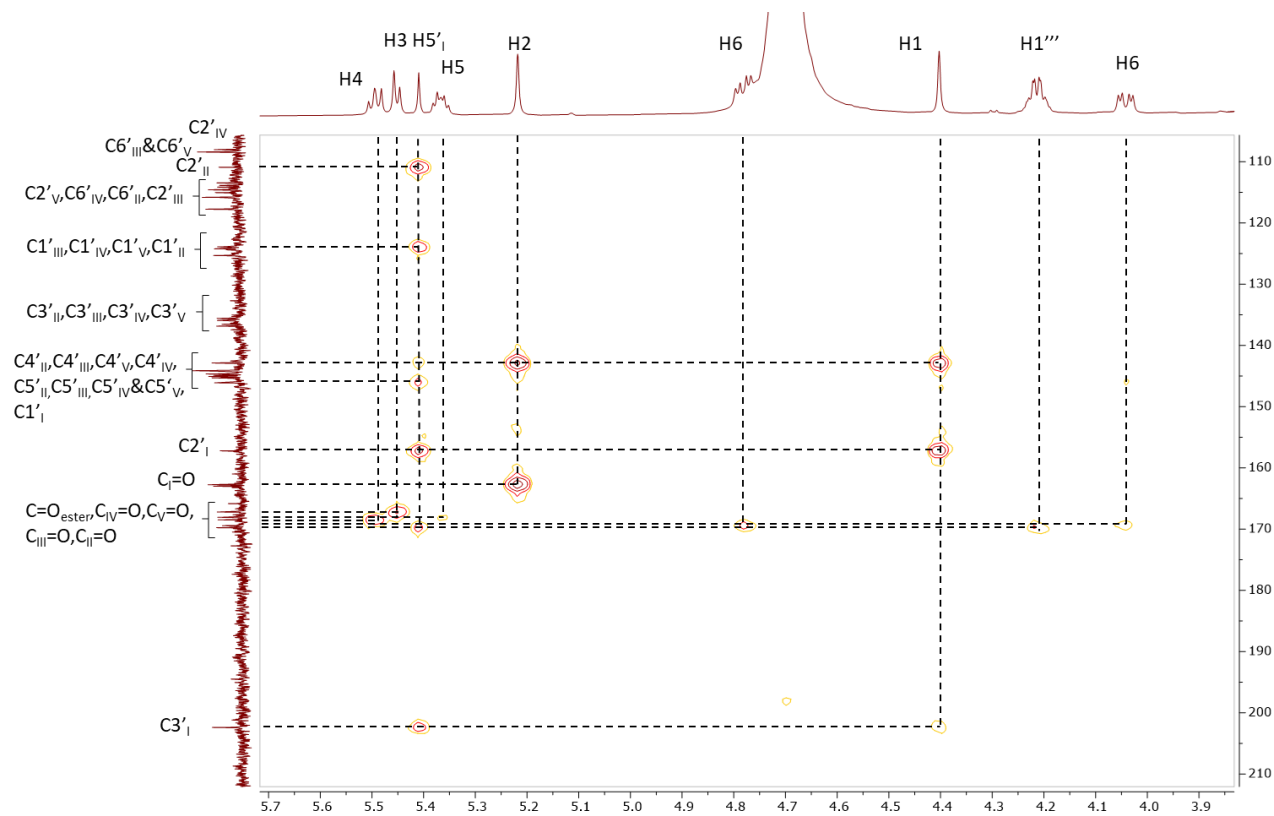
HSQC data map



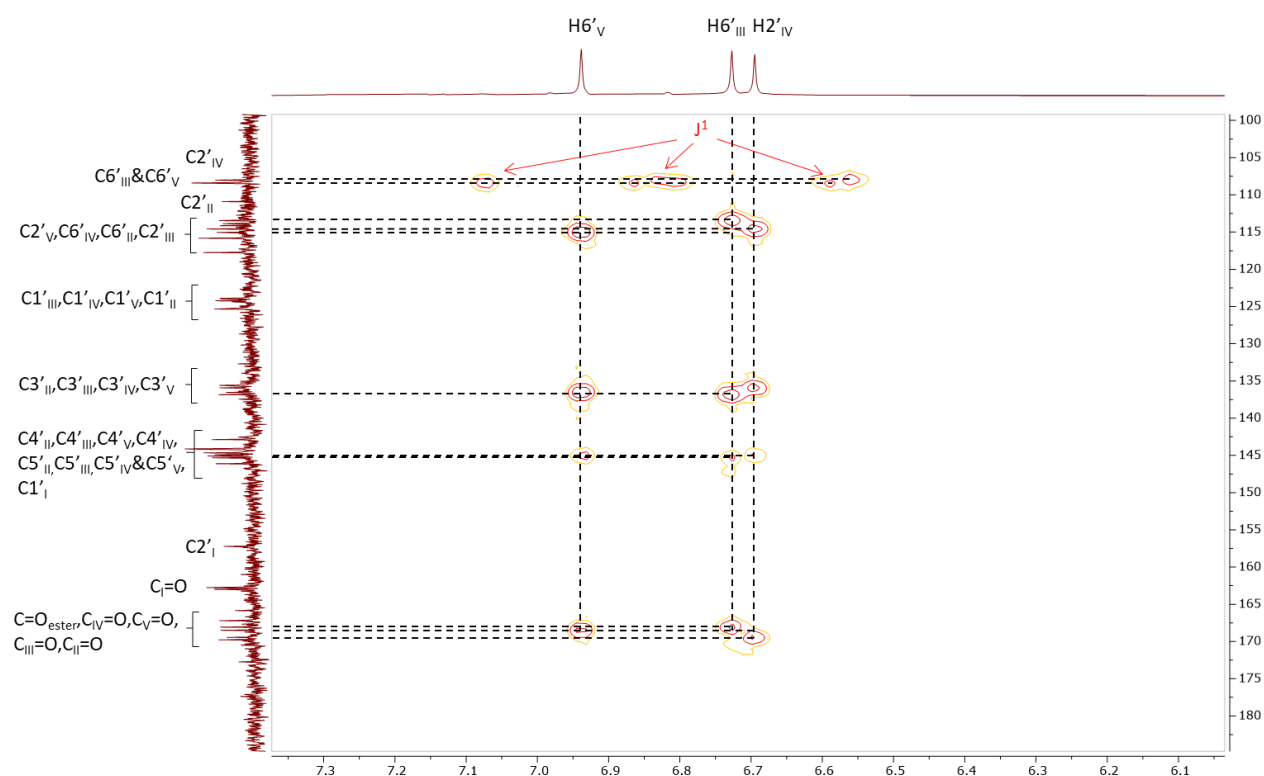
HMBC data map – Aliphatic area



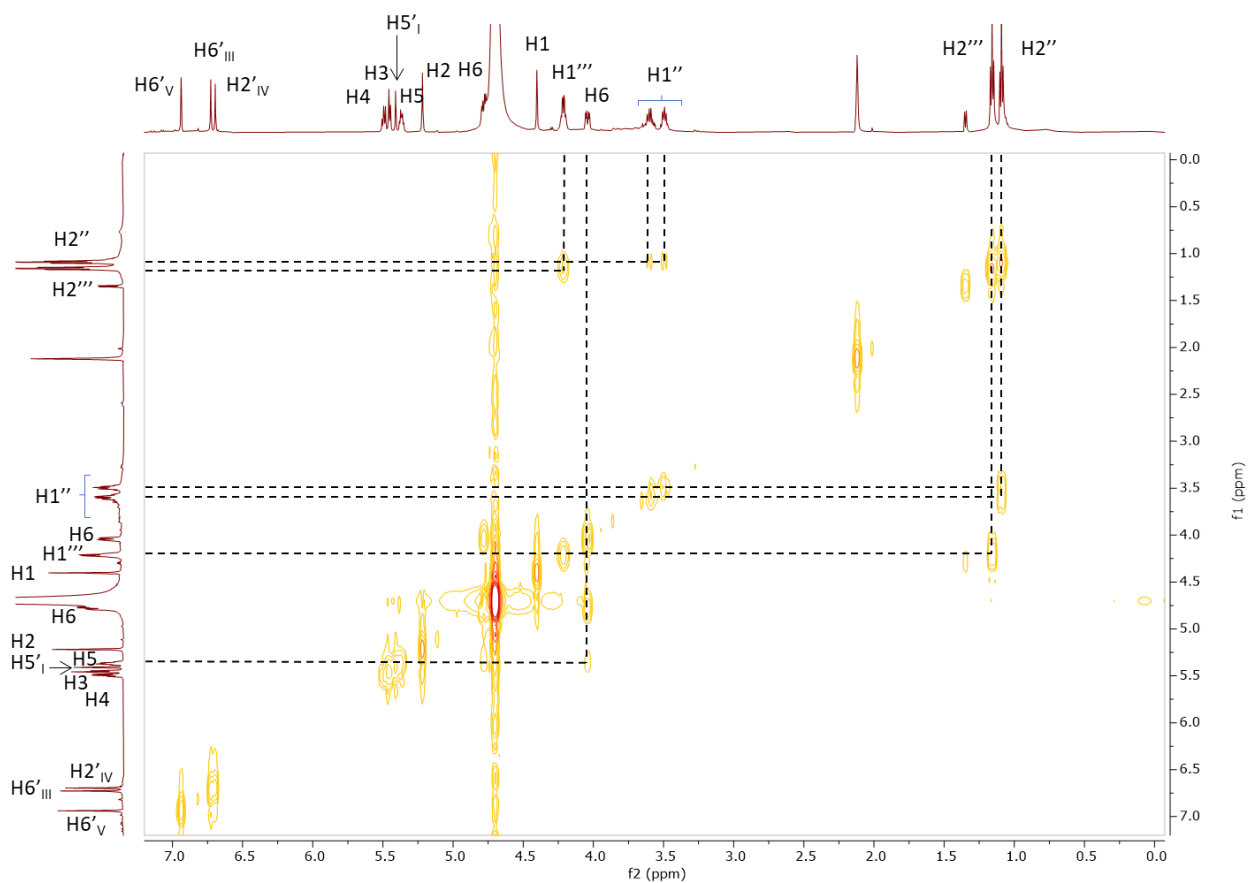
HMBC data map – Aromatic and carbonyl areas



HMBC data map – Aromatic area



COSY data map



Supplementary Data VI

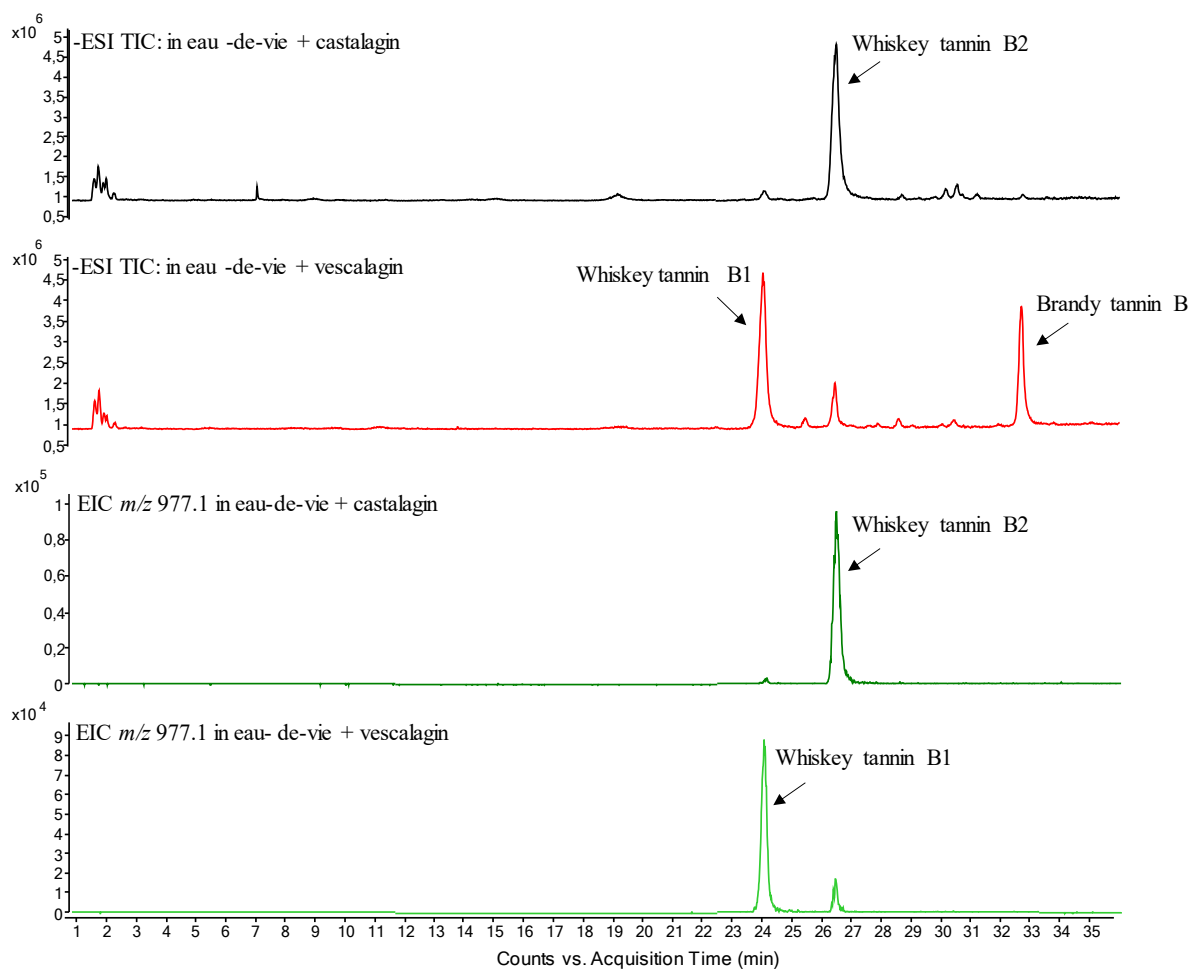


Figure S5. Total ions chromatograms (TIC) and extracted ions chromatograms (EIC) of m/z 977.1 of eau-de-vie supplemented in castalagin and vescalagin.

Supplementary Data VII

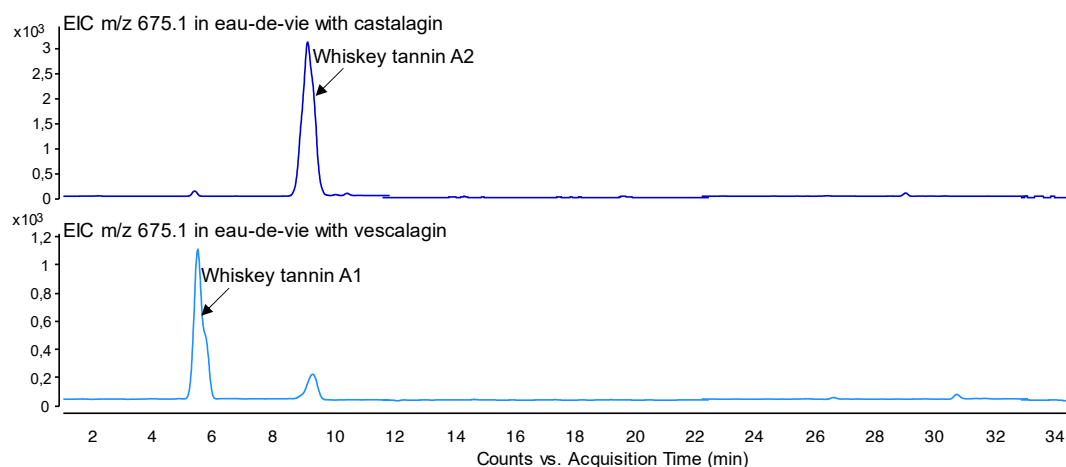
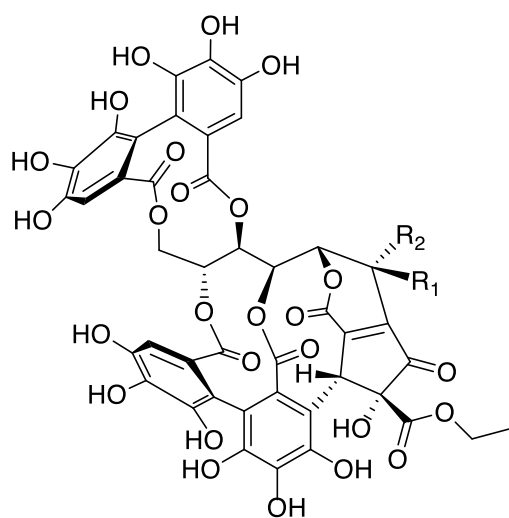
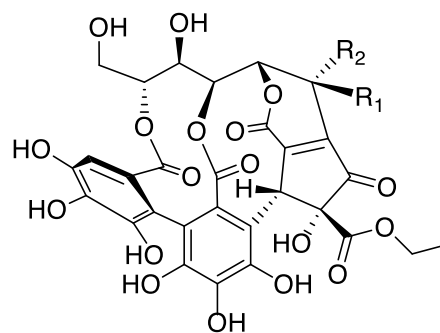


Figure S6. Extracted ions chromatograms (EIC) of m/z 675.1 of eau-de-vie supplemented in castalagin and vescalagin.

Supplementary Data VIII



whiskey tannin B1: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$
whiskey tannin B2: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OH}$



whiskey tannin A1: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$
whiskey tannin A2: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OH}$

Figure S7. Possible structures of whiskey tannins isomers.

3. AUTRES POSSIBLES COMPOSES D'EVOLUTION DES ELLAGITANINS PRESENTS DANS LES EAUX-DE-VIE DE COGNAC

Les travaux précédents ont montré l'identification et la caractérisation d'un nouveau composé dérivé des ellagitanins C-glucosidiques, le brandy tanin B, qui impacte le goût des eaux-de-vie de Cognac. Une autre étude récente a identifié la forme hydrolysée de ce composé, le brandy tanin A, en montrant également sa contribution au goût des eaux-de-vie. Il semblerait alors que les ellagitanins C-glucosidiques qui semblent avoir un impact organoleptique sur certaines eaux-de-vie, seraient également des précurseurs de composés ayant un impact organoleptique. Par ailleurs, les travaux présentés précédemment ont aussi permis de mettre en évidence la présence d'isomères de whiskey tanins pour la première fois dans les eaux-de-vie. Jusqu'à présent, une seule forme de whiskey tanin B (le whiskey tanin B2), ayant une configuration au niveau du carbone C-1 identique à la castalagine et son dérivé d'hydrolyse le whiskey tanin A (nommé whiskey tanin A2), avaient été isolés et identifiés dans les whisky par Fujieda *et al.* (2008). Notre étude (Cf p. 154) a permis d'identifier un isomère du whiskey tanin B (whiskey tanin B1) ayant une configuration au niveau du carbone C-1 identique à la vescalagine, ainsi que son dérivé d'hydrolyse (whiskey tanin A1), correspondant à l'isomère du whiskey tanin A2 identifié par Fujieda *et al.*, (2008). Toutefois une confirmation par RMN sera à réaliser, ainsi que des analyses sensorielles pour savoir si ces composés dérivés des ellagitanins C-glucosidiques influencent le goût des eaux-de-vie.

De plus, lors de la recherche de nouvelles structures d'ellagitanins dans les eaux-de-vie de Cognac, d'autres composés susceptibles de faire partie de cette famille ont été ciblés, dont cinq sont décrits ci-dessous.

Le premier composé inconnu retrouvé dans les eaux-de-vie de Cognac possède un ion moléculaire en mode négatif de $[M-H]^-$ de m/z 1109,1. Ce composé présente deux pics sur le chromatogramme de masse exacte m/z 1109.1489 (Figure 43A). Les deux pics ont alors été fractionnés en MS/MS à l'ESI-Q-TOF afin de connaître les fragments de l'ion m/z 1109,1489 (Figure 43B). Les fragments présents dans la molécule étant les mêmes, il peut être envisagé que les deux composés sont des isomères, un seul spectre de fragmentation sera alors détaillé ci-dessous. L'ion m/z 301,0050 ($C_{14}H_5O_8^-$) a été observé, ce qui pourrait correspondre à la présence d'une unité HHDP dans la molécule. En outre, deux autres fragments m/z 249,0468 ($C_{12}H_9O_6^-$) et m/z 275,0267 ($C_{13}H_7O_7^-$) ont également été observés et pourraient correspondre respectivement au 2,2',3,3',4,4'-biphénylhexol et au 3,4,8,9,10-pentahydroxy-6H-benzo[c]chromén-6-one. Ces trois ions sont généralement des fragments caractéristiques des

principaux ellagitanins C-glucosidiques (Bowers *et al.*, 2018), suite au clivage de l'unité HHDP supérieure. De plus, un fragment à m/z 1065,1703 ($C_{46}H_{33}O_{30}^-$) est présent, correspondant à une perte de 44 Da, soit à une perte de $-CO_2$ qui est également une fragmentation régulièrement observée pour les ellagitanins. Un fragment à m/z 1019,1217 également présent correspond à une perte de 46 Da par rapport à l'ion m/z 1065,1703, soit à une perte pouvant correspondre à une molécule d'éthanol. L'ion m/z 1065,1703 étant la grandinine ou roburine E, il est alors possible que les deux isomères de ce composé de masse exacte m/z 1109.1489 soient formés à partir de l'oxydation de la grandinine et de la roburine E, de la même manière que pour la vescalagine et la castalagine. Cette réaction donnerait alors naissance à deux nouveaux composés de formule brute $C_{48}H_{38}O_{31}$ et possédant une structure proche de celles des whiskey tanins B, et du brandy tanin B, engendrant ainsi la formation d'un cyclopentenone (Figure 43C).

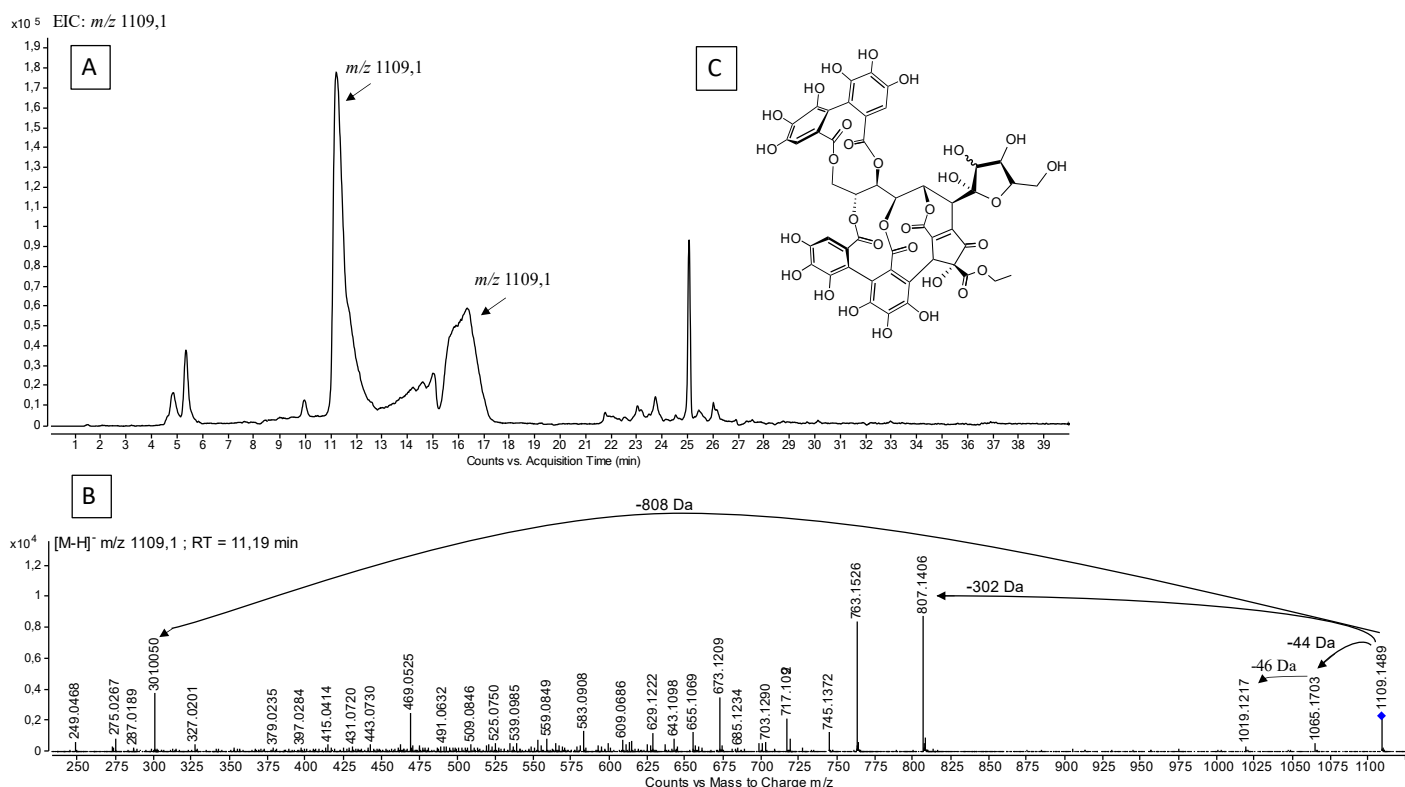


Figure 43. Chromatogramme associé à l'ion moléculaire de masse exacte m/z 1109,1489 (A), ainsi que le spectre de fragmentation en MS/MS associé (B), et la possible structure des deux isomères de ce composé (C).

Par ailleurs, comme visible sur le spectre de fragmentation (Figure 43B), la perte de l'HHDP (qui par bislactonisation forme l'acide ellagique) pouvant se produire par hydrolyse ou éthanolyse de la molécule, entraîne la présence d'un autre ion m/z 807,1. Ce composé est le troisième composé inconnu qui a été retrouvé dans les eaux-de-vie de Cognac.

En effet, le chromatogramme de l'ion de masse exacte m/z 807,1326 (Figure 44A) présente également deux pics, suggérant alors que les deux isomères de la réaction d'oxydation entre l'éthanol et les monomères glycosylés peuvent conduire à leur tour, par hydrolyse, à deux isomères, présentant ainsi une structure proche de celle des whiskey tanins A et du brandy tаниn A. Le spectre de fragmentation visible sur la Figure 44B présente d'ailleurs un fragment de m/z 763,1500 signifiant une perte de $-CO_2$, et un de m/z 717,1084 signifiant une perte d'éthanol par rapport à l'ion m/z 763,1500, confirmant une possible réaction d'oxydation. En effet, le fragment m/z 763,1500 ($C_{32}H_{27}O_{22}^-$) correspond à la forme hydrolysée de la grandinine ou roburine E, confirmant la structure des deux isomères m/z 807,1326 de formule brute $C_{34}H_{32}O_{23}$ pouvant alors être celle présentée sur la Figure 44C.

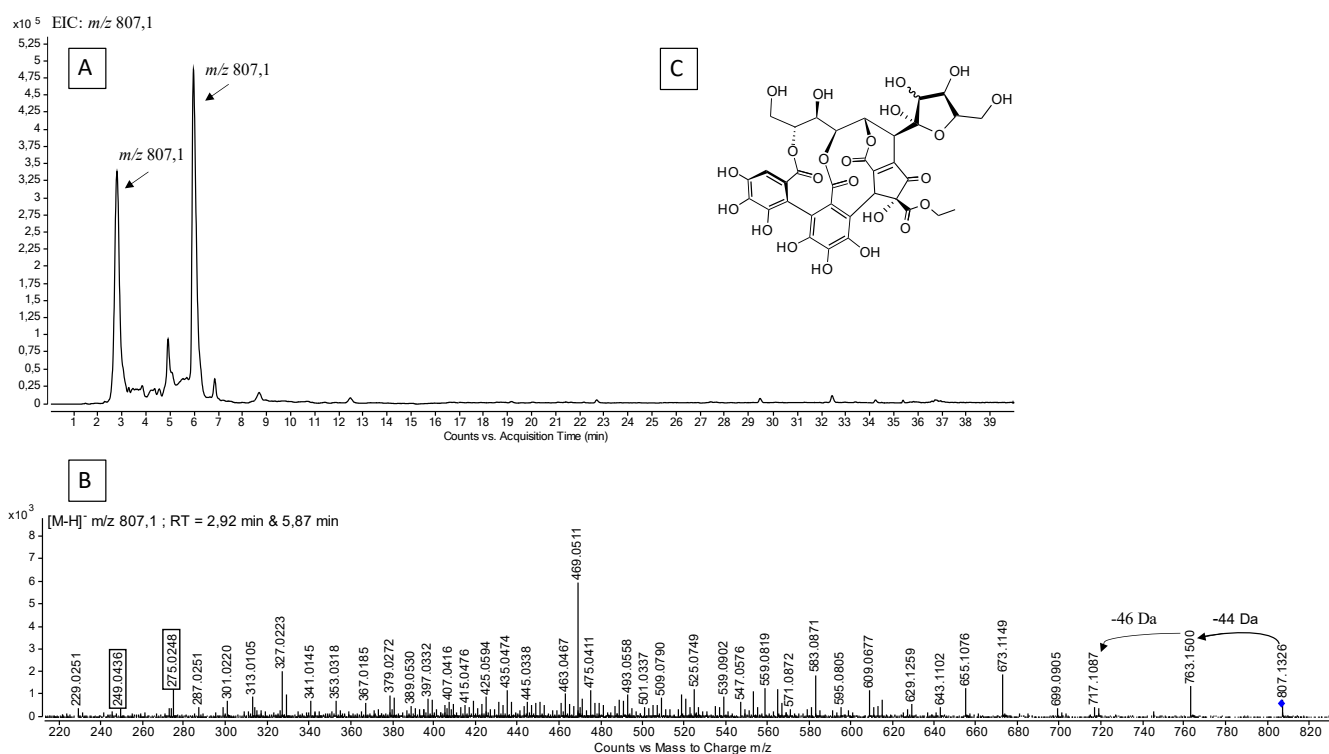


Figure 44. Chromatogramme associé à l'ion moléculaire de masse exacte m/z 807,1326 (A), ainsi que le spectre de fragmentation en MS/MS associé (B), et la possible structure des deux isomères de ce composé (C).

Le cinquième composé inconnu présent dans les eaux-de-vie de Cognac et susceptible de faire partie de la famille des ellagitanins est le composé associé à l'ion moléculaire m/z 961,1261 ($[M-H]^-$). Il existe déjà dans la littérature un composé possédant la même masse : la β -1-*O*-éthylvescalagine. Cependant, les temps de rétention ne sont pas les mêmes (Figure 45A), tout comme les spectres de fragmentation, suggérant qu'il existe deux composés présentant la même masse et la même formule brute. En effet, le spectre de fragmentation de ce composé inconnu (Figure 45B) possède également les trois ions m/z 301,0096 ($C_{14}H_5O_8^-$), m/z 249,0468

($C_{12}H_9O_6^-$) et m/z 275,0267 ($C_{13}H_7O_7^-$), suggérant que ce composé est un ellagitanin, tout comme c'est le cas sur le spectre de fragmentation de la β -1-*O*-éthylvescalagine (Figure 46). Cependant, les fragments majoritaires de cette dernière sont l'acide ellagique et la perte d'une molécule d'éthanol m/z 915,0894, en l'occurrence celui présent sur le C-1 de la β -1-*O*-éthylvescalagine. De plus, la perte sur ce dernier fragment (m/z 915,0894) de l'unité HHDP entraîne la présence d'un autre fragment, de m/z 613,0734. Ces ions ne sont pas présents sur le spectre de notre composé inconnu. En effet, le spectre de fragmentation de l'ion m/z 961,1261 inconnu possède deux fragments majoritaires qui sont les ions m/z 659,1129, soit exactement la même masse que la β -1-*O*-éthylvescalagine et m/z 300,9998 qui est l'acide ellagique. Comme le spectre de fragmentation de la β -1-*O*-éthylvescalagine montre bien que c'est la perte d'éthanol qui se produit en premier, le fragment m/z 659,1129 ne peut pas être un fragment de la β -1-*O*-éthylvescalagine. De plus, comme pour les autres composés déjà présentés, il se pourrait que ce soit à nouveau une réaction d'oxydation sur un ellagitanin C-glucosidique qui entraînerait la formation de ce composé, étant donné que le spectre de fragmentation présente à la fois une perte de $-CO_2$ (-44 Da) par la présence de l'ion m/z 917,1443, suivie d'une perte d'éthanol (-46 Da) par la présence de l'ion m/z 871,0912, comme précédemment retrouvé pour les autres composés d'évolution d'ellagitanins. En partant de ce postulat, il est possible que ce composé soit formé à partir de la réaction d'oxydation d'un dérivé de la vescalagine, la déoxyvescalagine, qui présente un hydrogène sur le C-1 à la place du groupement hydroxyle. L'oxydation de ce composé entraînerait alors la présence d'un cyclopentenone, formant ainsi le composé m/z 961,1261 de formule brute $C_{43}H_{30}O_{26}$, dont la structure est représentée sur la Figure 45C. En effet la déoxyvescalagine peut se retrouver dans les eaux-de-vie puisque comme montré dans la littérature (Glabasnia & Hofmann, 2007), cette molécule est formée à partir de la vescalagine pendant la chauffe.

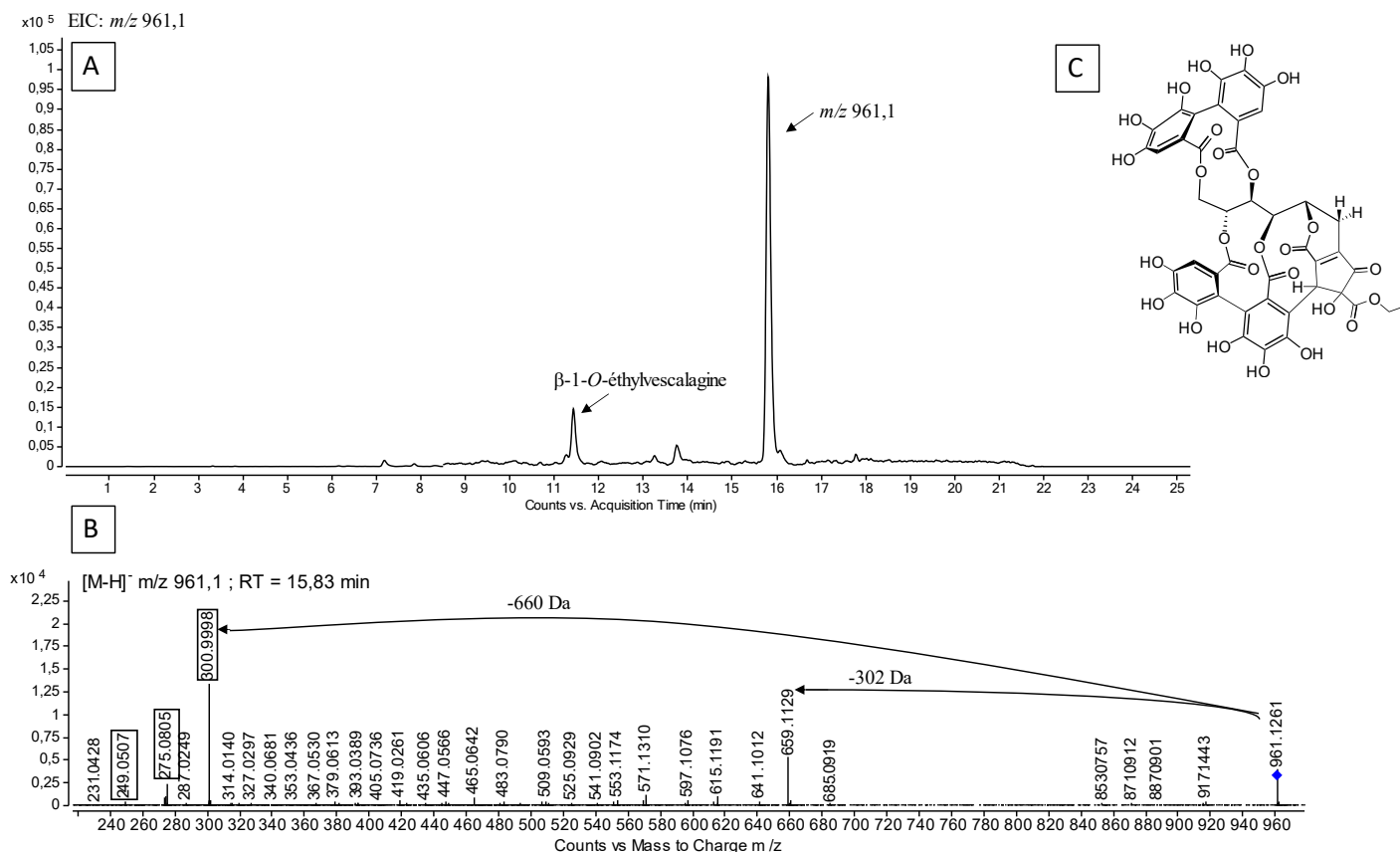


Figure 45. Chromatogramme associé à l'ion moléculaire de masse exacte m/z 961,1261 (A), ainsi que le spectre de fragmentation en MS/MS associé (B), et la possible structure de ce composé (C).

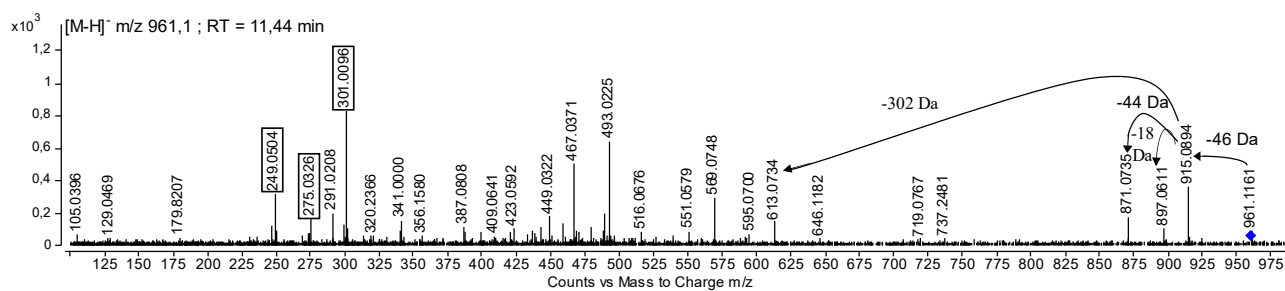


Figure 46. Spectre de fragmentation de la β -1-O-éthylvescalagine.

Malheureusement, la caractérisation par RMN pour élucider la structure de ces composés n'a pas pu être réalisée à ce jour. Il serait intéressant de poursuivre cette étude afin d'identifier ces composés et de pouvoir par la suite les quantifier dans les eaux-de-vie. En outre, au vu des structures présentées ici et des récents composés identifiés et caractérisés dans les eaux-de-vie, il semblerait que tous ces composés représentent la voie d'évolution majoritaire des ellagitanins dans les eaux-de-vie, avec une oxydation sur le cycle I qui donne lieu à une nouvelle structure composée d'un cyclopentenone. De plus, il a été montré pour certains composés du même type qu'ils possédaient un impact organoleptique, intervenant ainsi sur le goût des eaux-de-vie. Il

serait alors intéressant une fois l'élucidation structurale et la quantification de ces nouveaux composés réalisée, d'étudier sensoriellement ces nouvelles molécules afin de voir si tous ses composés impactent le goût des eaux-de-vie. Par ailleurs, il est probable que ces composés s'oxydent à leur tour pour former de nouvelles molécules. Tous ces composés pourraient à terme être considérés comme des marqueurs d'oxydation du vieillissement des eaux-de-vie de Cognac.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de ce travail de thèse était d'approfondir les connaissances sur les ellagitanins C-glucosidiques, depuis le bois de chêne d'où ils proviennent, jusqu'au verre de Cognac lors d'une dégustation d'eau-de-vie. Cela nous a mené à nous intéresser à leur comportement dans le bois de chêne lors du séchage des merrains et lors de la chauffe de la barrique, afin de comprendre quelle est l'influence des processus de tonnellerie sur le comportement de ces composés, du bois frais à une barrique neuve. Lorsqu'une eau-de-vie vieillit en barrique, elle va extraire les composés du bois et à son tour s'enrichir en ellagitanins. La problématique de savoir comment allaient se comporter ces composés dans cette matrice riche en alcool s'est alors posée, tout comme l'influence des techniques d'élevage sur leurs teneurs. Il était intéressant d'étudier plus en détails leurs structures chimiques, afin de comprendre les mécanismes chimiques qui se déroulent lors du vieillissement des eaux-de-vie de Cognac. Enfin, ces tanins du bois (seuls tanins dans les eaux-de-vie), ont-ils un impact lors de la dégustation d'un Cognac ?

Toutes ces questions se sont posées, mais pour y répondre, il a tout d'abord été indispensable de développer une méthode analytique permettant le dosage des ellagitanins C-glucosidiques, à la fois dans les bois et les eaux-de-vie de Cognac, afin de quantifier individuellement les ellagitanins C-glucosidiques. Une méthode par HPLC-QQQ a alors été mise au point et validée.

Cette méthode a ensuite permis l'étude de ces composés dans le bois de chêne et ce travail a permis de confirmer que les ellagitanins sont des composés qui sont dépendants de plusieurs facteurs au sein de l'arbre, tels que l'espèce de chêne, l'origine géographique, ou la taille du grain. La méthode de séchage des merrains a également une influence sur les teneurs en ellagitanins. Un séchage avec un arrosage régulier durant la période estivale, permettra une diminution en ellagitanins de 20 % supérieure à un séchage naturel où seuls les aléas météorologiques entraîneront un lessivage des ellagitanins par les pluies. Mais ce n'est pas le seul processus de tonnellerie à influencer les teneurs en ellagitanins. De manière générale, les ellagitanins C-glucosidiques sont des composés thermosensibles, qui se dégradent lors de la chauffe de la barrique. Les teneurs retrouvées dans les eaux-de-vie seront par conséquent plus faibles dans une eau-de-vie vieillie en barrique chauffée fortement (14 mg/L de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques) que chauffée faiblement (23 mg/L de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques). Au contraire, les composés volatils apportés par le bois verront leurs teneurs augmenter avec la chauffe, impactant ainsi largement l'arôme des eaux-de-vie de Cognac. Tous ces paramètres sont donc à prendre en compte lors du choix de barrique à utiliser pour le vieillissement d'une eau-de-vie. Plus particulièrement, le choix de la chauffe de la barrique entraînera des différences organoleptiques dans l'eau-de-vie lors du vieillissement.

En effet, il a été montré que la couleur de l'eau-de-vie, qui est le premier critère de qualité perçu par le dégustateur, est fortement dépendante de la chauffe de la barrique utilisée. Des différences de couleur perceptibles à l'œil nu seront retrouvées entre les eaux-de-vie vieilles dans des barriques fabriquées avec différents niveaux de chauffe. Plus l'intensité de la chauffe sera élevée, plus la couleur de l'eau-de-vie tendra vers des nuances de rouge-orangé. Il a été décidé de compléter cette étude par une caractérisation sensorielle des eaux-de-vie de Cognac vieilles dans les barriques fabriquées à différents niveaux de chauffe, afin d'élargir nos connaissances sur l'impact de la chauffe de la barrique sur les eaux-de-vie de Cognac. Les résultats pourraient alors conduire à des recommandations pratiques sur le type de chauffe à utiliser permettant de donner les meilleurs profils olfactifs et gustatifs aux eaux-de-vie.

Afin de comprendre quelle était la contribution sensorielle des ellagitanins C-glucosidiques aux eaux-de-vie de Cognac, des analyses sensorielles ont été réalisées afin de rechercher leur possible impact organoleptique. Les premiers résultats ont permis de mettre en évidence leur contribution au goût des eaux-de-vie lorsque leurs teneurs dans les eaux-de-vie étaient maximales (23 mg/L de la somme des huit ellagitanins C-glucosidiques).

Toutefois, l'étude des ellagitanins C-glucosidiques au cours du vieillissement a permis de mettre en évidence leur participation à des réactions chimiques ayant lieu dans les eaux-de-vie, étant donné que leur concentration maximale était retrouvée au bout de trois mois de vieillissement, avant de diminuer fortement au profit de dérivés d'ellagitanins qui seraient formés au cours du vieillissement. La recherche de nouvelles structures de type ellagique a alors permis l'identification et la caractérisation de nouveaux composés dérivés des ellagitanins, qui voient leurs teneurs augmenter au cours du vieillissement. Ce seraient alors majoritairement ces nouvelles molécules d'ellagitanins qui devraient contribuer au goût des eaux-de-vie, étant retrouvées dans les Cognac commerciaux. L'analyse sensorielle d'un de ces composés, le brandy tanin B, a d'ailleurs mis en évidence sa contribution au goût des eaux-de-vie à une concentration de 5 mg/L. Or il a été retrouvé à des concentrations allant jusqu'à 14 mg/L dans des eaux-de-vie de Cognac après 18 mois d'élevage.

Par ailleurs, en s'intéressant particulièrement à la structure chimique des composés d'évolution présents dans les eaux-de-vie, il a été observé que la voie d'évolution préférentielle des ellagitanins dans les eaux-de-vie se ferait par oxydation au niveau du cycle I des ellagitanins du bois, soit une voie différente de celle principalement décrite pour le vin rouge, où l'évolution était alors centrée sur le carbone C-1 de la vescalagine, conduisant ainsi à la formation des

acutissimines, ou de la β -1-*O*-éthylvescalagine entre autres. En revanche, une fois ces composés formés, il a été retrouvé qu'ils pouvaient à leur tour s'oxyder sur le cycle I afin de former des composés de structure ayant un motif cyclopentenone proche de ceux retrouvés dans les eaux-de-vie. Dans cette matrice, le mécanisme d'oxydation conduit donc préférentiellement à la formation d'un cyclopentenone au niveau du cycle I, comme c'est le cas pour les brandy tanins, les whiskey tanins et semblerait-il pour d'autres composés identifiés par MS/MS, comme les ions m/z 1109,1217 et m/z 807,1326 ([M-H]⁻).

L'ensemble des résultats de ce travail de thèse ont permis une étude approfondie des ellagitanins du bois et leur devenir dans les eaux-de-vie de Cognac. L'influence des processus de tonnellerie et les techniques d'élevage sur les ellagitanins ont permis d'ouvrir la voie à différentes perspectives d'étude.

Tout d'abord, un axe pratique, à travers la poursuite des recherches débutées dans cette étude sur le séchage des merrains. Selon le type de barrique souhaitée, il faudrait favoriser un séchage seul ou un séchage avec arrosage étant donné que certaines molécules d'ellagitanins seront plus lessivées que d'autres lors de cette étape. La méthode de séchage permettrait de moduler leurs quantités dans le bois avant la fabrication de la barrique. Il serait alors intéressant d'étudier en profondeur l'impact organoleptique individuel des ellagitanins du bois de chêne afin de connaître les descripteurs qui les caractérisent. La fabrication des barriques à partir des merrains des différentes modalités de séchage permettrait d'étudier le profil chimique et sensoriel des eaux-de-vie lors de leur vieillissement dans ce type de barriques. Plus particulièrement, la quantification et l'évolution des ellagitanins avec les analyses sensorielles permettraient de voir si le type de séchage influence la couleur, la structure, les arômes et le goût de ces eaux-de-vie.

Il serait également intéressant de poursuivre l'étude de la chauffe de la barrique sur les eaux-de-vie de Cognac. Pour un Cognac de qualité VS, l'eau-de-vie la plus jeune pour faire partie d'un assemblage est de trois ans. L'étude des ellagitanins dans ces eaux-de-vie serait à poursuivre afin de voir les composés d'évolution des ellagitanins majoritaires ainsi que leur comportement au cours d'un vieillissement de trois ans. Des analyses sensorielles seraient également à mettre en place, afin de caractériser ces eaux-de-vie, et de voir quelle chauffe de barrique permettrait l'obtention d'eaux-de-vie les plus qualitatives.

Par ailleurs, les techniques d'élevage ont également été étudiées dans cette thèse, mettant en avant que la durée des rotations des eaux-de-vie n'impactait pas les teneurs en ellagitanins au cours des deux premières années du vieillissement. Il serait alors intéressant de compléter ces

résultats par des analyses de la composition volatile du bois dans les eaux-de-vie afin de pouvoir à terme, choisir le type de rotation à utiliser dans les chais.

Ensuite, un axe plus fondamental basé sur les composés d'évolution des ellagitanins dans les eaux-de-vie pourrait faire l'objet d'une étude plus approfondie. Il s'agirait de poursuivre l'identification et la caractérisation des dérivés d'ellagitanins encore inconnus dans les eaux-de-vie, en recherchant notamment les composés d'oxydation possédant un cyclopentenone comme cela devrait être le cas pour les dimères et les dimères glycosylés d'ellagitanins, ainsi que pour les dérivés de la vescalagine et de la castalagine, la deoxyvescalagine et la dehydrocastalagine. Une fois l'identification et la quantification de ces nouveaux composés réalisée, il pourrait être envisagé d'étudier sensoriellement ces nouveaux composés afin de voir s'ils impactent le goût des eaux-de-vie. Par ailleurs, il est probable que ces composés s'oxydent à leur tour pour former de nouveaux composés. Tous ces ellagitanins pourraient à terme être considérés comme des indicateurs d'oxydation des eaux-de-vie de Cognac. Il serait alors envisageable d'utiliser les composés d'évolution des ellagitanins comme marqueurs du vieillissement des eaux-de-vie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abbott, N., Puech, J.-L., Bayonove, C., & Baumes, R. (1995). Determination of the aroma threshold of the cis and trans racemic forms of β -methyl- γ -octalactone by gas chromatography-sniffing analysis. *American journal of enology and viticulture*, 46(3), 292-294.
- Abdi, S., & Ali, A. (1999). Role of ROS modified human DNA in the pathogenesis and etiology of cancer. *Cancer letters*, 142(1), 1-9.
- Abe, J., & Berk, B. C. (1998). Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. *Trends in cardiovascular medicine*, 8(2), 59-64.
- Acuña, L., Gonzalez, D., de la Fuente, J., & Moya, L. (2014). Influence of toasting treatment on permeability of six wood species for enological use. *Holzforschung*, 68(4), 447-454.
- Adler, E., Hoon, M. A., Mueller, K. L., Chandrashekar, J., Ryba, N. J., & Zuker, C. S. (2000). A novel family of mammalian taste receptors. *Cell*, 100(6), 693-702.
- Alañón, M., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M., Gordon, M., & Pérez-Coello, M. (2011). A study of the antioxidant capacity of oak wood used in wine ageing and the correlation with polyphenol composition. *Food Chemistry*, 128(4), 997-1002.
- Alañón, M., Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M., Hermosín-Gutiérrez, I., Gordon, M. H., & Pérez-Coello, M. (2011). Antioxidant capacity and phenolic composition of different woods used in cooperage. *Food Chemistry*, 129(4), 1584-1590.
- Andres-Barquin, P. J., & Conte, C. (2004). Molecular basis of bitter taste. *Cell biochemistry and biophysics*, 41(1), 99-112.
- Arnold, R. A., Noble, A. C., & Singleton, V. L. (1980). Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 28(3), 675-678.
- Arramon, G. (2001). *Les triterpènes et lignanes des bois de chêne européen Quercus robur L. et Quercus Petraea Liebl.* Bordeaux 2.
- Arramon, G., Saucier, C., Colombani, D., & Glories, Y. (2002). Identification of triterpene saponins in *Quercus robur* L. and *Q. petraea* Liebl. Heartwood by LC-ESI/MS and NMR. *Phytochemical Analysis*, 13(6), 305-310. <https://doi.org/10.1002/pca.658>
- Awad, P., Athès, V., Decloux, M. E., Ferrari, G., Snackers, G., Raguenaud, P., & Giampaoli, P. (2017). Evolution of Volatile Compounds during the Distillation of Cognac Spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(35), 7736-7748. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02406>

Ayala, F., Echávarri, J., & Negueruela, A. (1997). A new simplified method for measuring the color of wines. I. Red and rose wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), 357-363.

Ayres, D. C., Ayres, D. C., & Loike, J. D. (1990). *Lignans: Chemical, biological and clinical properties*. Cambridge university press.

B

Bate-Smith, E. (1973). Haemanalysis of tannins: The concept of relative astringency. *Phytochemistry*, 12(4), 907-912.

Bate-Smith, E. C. (1954). Astringency in foods. *Food*, 23, 419-429.

Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S., & Matern, U. (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: A major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5(2), 293-308.

Bowers, J. J., Gunawardena, H. P., Cornu, A., Narvekar, A. S., Richieu, A., Deffieux, D., Quideau, S., & Tharayil, N. (2018). Rapid Screening of Ellagitannins in Natural Sources via Targeted Reporter Ion Triggered Tandem Mass Spectrometry. *Scientific Reports*, 8(1), 10399. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27708-3>

C

Cadahía, E., Fernández de Simón, B., & Jalocha, J. (2003). Volatile Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods after Natural Seasoning and Toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), 5923-5932. <https://doi.org/10.1021/jf0302456>

Cadahía, E., Muñoz, L., Fernández de Simón, B., & García-Vallejo, M. C. (2001). Changes in Low Molecular Weight Phenolic Compounds in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1790-1798. <https://doi.org/10.1021/jf0006168>

Cadahía, E., Varea, S., Muñoz, L., Fernández de Simón, B., & García-Vallejo, M. C. (2001). Evolution of Ellagitannins in Spanish, French, and American Oak Woods during Natural Seasoning and Toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3677-3684. <https://doi.org/10.1021/jf010288r>

Cameleyre, M. (2017). *Contribution à l'étude de l'expression aromatique fruitée des vins rouges: Importance du niveau pré-sensoriel dans les interactions perceptives*. [Phdthesis, Université de Bordeaux]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02422221>

- Canas, S., Belchior, A. P., Caldeira, I., Spranger, M. I., & de Sousa, R. B. (2000). Evolution de la couleur des eaux-de-vie de Lourinhã pendant les trois premières années du vieillissement. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 15(1), 1-14.
- Canas, S., Belchior, A. P., Falcão, A., Gonçalves, J. A., Spranger, M. I., & Bruno-de-Sousa, R. (2007). Effect of heat treatment on the thermal and chemical modifications of Oak and Chestnut wood used in brandy ageing. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 22(1), 5-14.
- Canas, S., Caldeira, I., Anjos, O., & Belchior, A. P. (2019). Phenolic profile and colour acquired by the wine spirit in the beginning of ageing: Alternative technology using micro-oxygenation vs traditional technology. *LWT*, 111, 260-269. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.018>
- Canas, S., Casanova, V., & Pedro Belchior, A. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of Portuguese wine aged brandies. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 626-633. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.001>
- Canas, S., Leandro, M. C., Spranger, M. I., & Belchior, A. P. (1999). Low Molecular Weight Organic Compounds of Chestnut Wood (*Castanea sativa* L.) and Corresponding Aged Brandies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5023-5030. <https://doi.org/10.1021/jf9900480>
- Canas, S., Leandro, M. C., Spranger, M. I., & Belchior, A. P. (2000). Influence of Botanical Species and Geographical Origin on the Content of Low Molecular Weight Phenolic Compounds of Woods Used in Portuguese Cooperage. *Holzforschung*, 54(3), 255-261. <https://doi.org/10.1515/HF.2000.043>
- Charrier, B., Haluk, J., & Metche, M. (1995). *Characterization of European oakwood constituents acting in the brown discolouration during kiln drying*.
- Chassaing, S., Lefeuvre, D., Jacquet, R., Jourdes, M., Ducasse, L., Galland, S., Grelard, A., Saucier, C., Teissedre, P., & Dangles, O. (2015). Physicochemical Studies of New Anthocyano-Ellagitannin Hybrid Pigments: About the Origin of the Influence of Oak C-Glycosidic Ellagitannins on Wine Color (Eur. J. Org. Chem. 1/2010). *European Journal of Organic Chemistry*, 1, 55-63.
- Chatonnet, P. (1999). *Discrimination and Control of Toasting Intensity and Quality of Oak Wood Barrels*. 50(4), 16.
- Chatonnet, P., Boidron, J.-N., & Dubourdiou, D. (1994). Nature et évolution de la microflore du bois de chêne au cours de son séchage et de son vieillissement à l'air libre. *OENO One*, 28(3), 185-201. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1994.28.3.1139>

- Chatonnet, P., Boidron, J.-N., Dubourdieu, D., & Pons, A. (1994). Évolution des composés polyphénoliques du bois de chêne au cours de son séchage. Premiers résultats. *OENO One*, 28(4), 337-357.
- Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1998a). Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(1), 79-85.
- Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1998b). Identification of substances responsible for the 'sawdust' aroma in oak wood. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 179-188. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<179::AID-JSFA924>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<179::AID-JSFA924>3.0.CO;2-6)
- Chatonnet, P., Fleury, A., & Boutou, S. (2010). 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*, 58(19), 10528-10538. <https://doi.org/10.1021/jf102571v>
- Chen, C. L. (1970). Constituents of *Quercus alba*. *Phytochemistry*, 1149.
- Chen, T.-Y., Wang, B., Wu, Y.-Y., Wen, J.-L., Liu, C.-F., Yuan, T.-Q., & Sun, R.-C. (2017). Structural variations of lignin macromolecule from different growth years of Triploid of *Populus tomentosa* Carr. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101(Supplement C), 747-757. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.146>
- Chira, K., Anguelli, L., Da Costa, G., Richard, T., Pedrot, E., Jourdes, M., & Teissedre, P.-L. (2020a). New C-Glycosidic Ellagitannins Formed upon Oak Wood Toasting, Identification and Sensory Evaluation. *Foods*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101477>
- Chira, K., Anguelli, L., Da Costa, G., Richard, T., Pedrot, E., Jourdes, M., & Teissedre, P.-L. (2020b). New C-Glycosidic Ellagitannins Formed upon Oak Wood Toasting, Identification and Sensory Evaluation. *Foods*, 9(10), 1477. <https://doi.org/10.3390/foods9101477>
- Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2013a). Relation between volatile composition, ellagitannin content and sensory perception of oak wood chips representing different toasting processes. *European Food Research and Technology*, 236(4), 735-746. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-1930-0>
- Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2013b). Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting

- methods: Behaviour during storage. *Food Chemistry*, 140(1-2), 168-177. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.049>
- Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2013c). Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage. *Food Chemistry*, 140(1), 168-177. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.049>
- Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2015). Chemical and sensory evaluation of wine matured in oak barrel : Effect of oak species involved and toasting process. *European Food Research and Technology*, 240(3), 533-547. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2352-3>
- Chira, K., Zeng, L., Le Floch, A., Péchamat, L., Jourdes, M., & Teissedre, P.-L. (2015). Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oak wood ellagitannin. *Tetrahedron*, 71(20), 2999-3006. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.02.018>
- CIE, C. (1986). Publication 15.2. *Colorimetry*.
- Cutzach, I., Chatonnet, P., Henry, R., & Dubourdieu, D. (1997). Identification of volatile compounds with a “toasty” aroma in heated oak used in barrelmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2217-2224.

D

- Da Porto, C., Calligaris, S., Celotti, E., & Nicoli, M. C. (2000). Antiradical Properties of Commercial Cognacs Assessed by the DPPH * Test. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4241-4245. <https://doi.org/10.1021/jf000167b>
- Deret-Varcin, E. (1983). Etude comparative de la qualité du bois de trois types de chênes (rouvres, pédonculés et intermédiaires), en forêt de Morimond. *Annales des sciences forestières*, 40(4), 373-398.
- Deshpande, D. A., Wang, W. C., McIlmoyle, E. L., Robinett, K. S., Schillinger, R. M., An, S. S., Sham, J. S., & Liggett, S. B. (2010). Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nature medicine*, 16(11), 1299-1304.
- Doussot, F., De Jéso, B., Quideau, S., & Pardon, P. (2002). 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*, 50(21), 5955-5961. <https://doi.org/10.1021/jf020494e>

- Doussot, F., Pardon, P., Dedier, J., & De Jeso, B. (2000). Individual, species and geographic origin influence on cooperage oak extractible content (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl.). *Analisis*, 28(10), 960-965.
- Du Penhoat, C. L. H., Michon, V. M., Ohassan, A., Peng, S., Scalbert, A., & Gage, D. (1991). Roburin A, a dimeric ellagitannin from heartwood of *Quercus robur*. *Phytochemistry*, 30(1), 329-332.

F

- Faith, N., & Guillard, M. (2016). *Encyclopédie du cognac : Vignes, alambics et chais*. Yvelinédition.
- Fengel, D., & Wegener, G. (1989). Ultrastructure, reactions. *Wood chemistry*, 613S.
- Fengel, D., & Wegener, G. (2011). *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions* (p. 618). Scopus. <https://doi.org/10.1515/9783110839654>
- Fernández de Simón, B., Cadahía, E., Conde, E., & García-Vallejo, M. C. (1999). Evolution of Phenolic Compounds of Spanish Oak Wood during Natural Seasoning. First Results. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1687-1694. <https://doi.org/10.1021/jf9805855>
- Fernandez de Simon, B. (Instituto N. des I. A., Cadahia, E., Conde, E., & Garcia Vallejo, M. C. (1998). Ellagitannins in woods of Spanish oaks. *Journal Des Sciences et Techniques de La Tonnelerie (France)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR1999000361>
- Ferrari, G., Lablanquie, O., Cantagrel, R., Ledauphin, J., Payot, T., Fournier, N., & Guichard, E. (2004). Determination of Key Odorant Compounds in Freshly Distilled Cognac Using GC-O, GC-MS, and Sensory Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(18), 5670-5676. <https://doi.org/10.1021/jf049512d>
- Feuillat, F., Huber, F., & Keller, R. (1992). Mise au point sur : La notion de grain utilisée pour le classement des merrains de chêne. *Revue française d'oenologie*, 32(139), 65-69.
- Feuillat, F., Keller, R., Sauvageot, F., & Puech, J.-L. (1999). Characterization of French oak cooperage (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Research of the study group on barrel-aging Burgundy wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 513-518.
- Franitza, L., Granvogl, M., & Schieberle, P. (2016). Characterization of the key aroma compounds in two commercial rums by means of the sensomics approach. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(3), 637-645.

- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., & Apanasets, O. (2012). Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism : Implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1822(9), 1363-1373. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.001>
- Fujieda, M., Tanaka, T., Suwa, Y., Koshimizu, S., & Kouno, I. (2008). Isolation and Structure of Whiskey Polyphenols Produced by Oxidation of Oak Wood Ellagitannins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 7305-7310. <https://doi.org/10.1021/jf8012713>

G

- Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Cretin, B. N., Sindt, L., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2019). Triterpenoids from *Quercus petraea*: Identification in Wines and Spirits and Sensory Assessment. *Journal of Natural Products*, 82(2), 265-275. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00682>
- Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2020). Isolation of Taste-Active Triterpenoids from *Quercus robur* : Sensory Assessment and Identification in Wines and Spirit. *Journal of Natural Products*, 83(5), 1611-1622. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00106>
- García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C., & Alcalde-Eon, C. (2010). Development of a fractionation method for the detection and identification of oak ellagitannins in red wines. *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2), 171-176. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.020>
- García-Marino, M., Hernández-Hierro, J. M., Rivas-Gonzalo, J. C., & Escribano-Bailón, M. T. (2010). Colour and pigment composition of red wines obtained from co-maceration of Tempranillo and Graciano varieties. *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2), 134-142.
- Garde-Cerdán, T., & Ancín-Azpilicueta, C. (2006). Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. *Trends in Food Science & Technology*, 17(8), 438-447.
- Glabasnia, A., & Hofmann, T. (2006). 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*, 54(9), 3380-3390. <https://doi.org/10.1021/jf052617b>
- Glabasnia, A., & Hofmann, T. (2007). Identification and Sensory Evaluation of Dehydro- and Deoxy-ellagitannins Formed upon Toasting of Oak Wood (*Quercus alba* L.). *Journal*

- of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4109-4118.
<https://doi.org/10.1021/jf070151m>
- Glasser, W. G., & Glasser, H. R. (1974). *Simulation of reactions with lignin by computer (Simrel). II. A model for softwood lignin.*
- González-Centeno, M. R., Chira, K., & Teissedre, P.-L. (2016). Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods. *Food Chemistry*, 210, 500-511.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139>
- Green, B. G. (1993). Oral astringency: A tactile component of flavor. *Acta psychologica*, 84(1), 119-125.
- Grundhöfer, P., Niemetz, R., Schilling, G., & Gross, G. G. (2001). Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry*, 57(6), 915-927.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00099-1)
- Guillén, M. D., & Manzanos, M. J. (2002). Study of the volatile composition of an aqueous oak smoke preparation. *Food Chemistry*, 79(3), 283-292.
- Guinard, J.-X., Pangborn, R. M., & Lewis, M. J. (1986). The time-course of astringency in wine upon repeated ingestion. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(3), 184-189.
- Guymon, J., & Crowell, E. (1972). GC-separated brandy components derived from French and American oaks. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(3), 114-120.

H

- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1981). The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *Journal of Biological Chemistry*, 256(9), 4494-4497.
- Hale, M. D., Mccafferty, K., Larmie, E., Newton, J., & Swan, J. S. (1999). The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 495-502.
- Harborne, J. B. (1999). Classes and functions of secondary products from plants. *Chemicals from plants*, 26, 1-25.
- Haslam, E., & Cai, Y. (1994). Plant polyphenols (vegetable tannins) : Gallic acid metabolism. *Natural Product Reports*, 11, 41-66.
- Hayasaka, Y., Wilkinson, K. L., Elsey, G. M., Raunkjær, M., & Sefton, M. A. (2007). Identification of natural oak lactone precursors in extracts of American and French oak woods by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(22), 9195-9201.

J

- Jaggupilli, A., Howard, R., Upadhyaya, J. D., Bhullar, R. P., & Chelikani, P. (2016). Bitter taste receptors : Novel insights into the biochemistry and pharmacology. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 77, 184-196.
- Jordão, A. M., Correia, A. C., DelCampo, R., & SanJosé, M. L. G. (2012). Antioxidant capacity, scavenger activity, and ellagitannins content from commercial oak pieces used in winemaking. *European Food Research and Technology*, 235(5), 817-825.
- Jordão, A. M., Ricardo-da-Silva, J. M., & Laureano, O. (2007). Ellagitannins from Portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.) used in cooperage: Influence of geographical origin, coarseness of the grain and toasting level. *Holzforschung*, 61(2), 155-160. <https://doi.org/10.1515/HF.2007.028>
- Jordão, A. M., Ricardo-da-Silva, J. M., & Laureano, O. (2017). Extraction of Some Ellagic Tannins and Ellagic Acid from Oak Wood Chips (*Quercus pyrenaica* L.) in Model Wine Solutions : Effect of Time, pH, Temperature and Alcoholic Content. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 26(2). <https://doi.org/10.21548/26-2-2122>
- Joseph, E., & Marche, M. (1972). Contribution à l'étude du vieillissement du cognac— Identification de la scopolétine, de l'aesculétine, de l'ombelliférone, de la β -methylombelliférone, de l'aesculine, et de la scopoline, hétérosides provenant du bois. *OENO One*, 6(3), 273-330. <https://doi.org/10.20870/oenone.1972.6.3.2065>
- Jouin, A. (2019). *Évolution et caractérisation chimique des tanins couronnes du raisin au vin*. Bordeaux.
- Jourdes, M., Michel, J., Saucier, C., Quideau, S., & Teissedre, P.-L. (2011). 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*, 401(5), 1531. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4949-8>

K

- Kallithraka, S., Bakker, J., & Clifford, M. (1998). Evidence that salivary proteins are involved in astringency. *Journal of Sensory Studies*, 13(1), 29-43.
- Keller, R. (1987). Différentes variétés de chênes et leur répartition dans le monde. *OENO One*, 21(3), 191. <https://doi.org/10.20870/oenone.1987.21.3.1281>
- Keller, R. (1992). Les chênes dans le monde. Les chênes de tonnellerie en France : *Quercus petraea* et *Quercus robur*. *J. Intern. Sci. Vigne Vin*, 7-28.

- Kepner, R. E., Webb, A. D., & Muller, C. J. (1972). Identification of 4-Hydroxy-3-Methyloctanoic Acid Gamma-Lactone [5-Butyl-4-Methyldihydro-2-(3H)-Furanone] as a Volatile Component of Oak-Wood-Aged Wines of *Vitis Vinifera* Var. Cabernet Sauvignon'. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(3), 103-105.
- Klumpers, J., Scalbert, A., & Janin, G. (1994). Ellagitannins in European oak wood: Polymerization during wood ageing. *Phytochemistry*, 36(5), 1249-1252. Scopus. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89646-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89646-6)
- Koga, K., Tachihara, S., Shirasaka, N., Yamada, Y., & Koshimizu, S.-I. (2011). Profile of non-volatiles in whisky with regard to superoxide dismutase activity. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 112(2), 154-158. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.04.002>
- Konica Minolta. (2007). *Analyse des couleurs, parlons clair*. https://www5.konicaminolta.eu/fileadmin/content/eu/Measuring_Instruments/4_Learning_Centre/C_A/PRECISE_COLOR_COMMUNICATION/PCC_2020/PRECISECOLORCOMMUNICATION_FR_2020.pdf

L

- Laubenheimer, F. (2013). Amphoras and Shipwrecks. In *A Companion to the Archaeology of the Roman Republic* (p. 97-109). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118557129.ch6>
- Le Floch, A. (2015). *Les polysaccharides et les ellagitannins du bois de chêne : Influence sur la qualité sensorielle des vins* [Travaux Universitaires, Bordeaux]. <https://ent.u-bordeaux.fr/uPortal/f/bibliotheques/p/babord.u6111n8/max/render.uP>
- Lea, A. G., & Arnold, G. M. (1978). The phenolics of ciders : Bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(5), 478-483.
- Ledauphin, J., Le Milbeau, C., Barillier, D., & Hennequin, D. (2010). Differences in the Volatile Compositions of French Labeled Brandies (Armagnac, Calvados, Cognac, and Mirabelle) Using GC-MS and PLS-DA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 7782-7793. <https://doi.org/10.1021/jf9045667>
- Lee, K. M., Paterson, A., Piggott, J. R., & Richardson, G. D. (2000a). Measurement of thresholds for reference compounds for sensory profiling of Scotch whisky. *Journal of the Institute of Brewing*, 106(5), 287-294.
- Lee, K. M., Paterson, A., Piggott, J. R., & Richardson, G. D. (2000b). Perception of whisky flavour reference compounds by Scottish distillers. *Journal of the Institute of Brewing*, 106(4), 203-208.

- Lefebvre, A., & Bassereau, J.-F. (2003). L'analyse sensorielle, une méthode de mesure au service des acteurs de la conception: Ses avantages, ses limites, ses voies d'amélioration. *Application aux emballages*, 10, 3-11.
- Linneo, C., *Species Plantarum*, 2: 996. 1753
- Litchev, V. (1989). Influence of oxidation processes on the development of the taste and flavor of wine distillates. *American journal of enology and viticulture*, 40(1), 31-35.
- Luo, Y., Kong, L., Xue, R., Wang, W., & Xia, X. (2020). Bitterness in alcoholic beverages: The profiles of perception, constituents, and contributors. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 222-232.

M

- Madrera, R. R., Valles, B. S., García, Y. D., del Valle Argüelles, P., & Lobo, A. P. (2010). Alternative woods for aging distillates-an insight into their phenolic profiles and antioxidant activities. *Food Science and Biotechnology*, 19(4), 1129-1134.
- Marchal, A., Cretin, B. N., Sindt, L., Waffo-Téguo, P., & Dubourdieu, D. (2015). Contribution of oak lignans to wine taste: Chemical identification, sensory characterization and quantification. *Tetrahedron*, 71(20), 3148-3156. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.07.090>
- Marchal, A., Prida, A., & Dubourdieu, D. (2016). New Approach for Differentiating Sessile and Pedunculate Oak: Development of a LC-HRMS Method To Quantitate Triterpenoids in Wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(3), 618-626. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05056>
- Marchal, A., Waffo-Téguo, P., Génin, E., Mérillon, J.-M., & Dubourdieu, D. (2011). Identification of New Natural Sweet Compounds in Wine Using Centrifugal Partition Chromatography–Gustatometry and Fourier Transform Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 83(24), 9629-9637. <https://doi.org/10.1021/ac202499a>
- Martínez, J., Cadahía, E., Fernández de Simón, B., Ojeda, S., & Rubio, P. (2008). Effect of the Seasoning Method on the Chemical Composition of Oak Heartwood to Cooperage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3089-3096. <https://doi.org/10.1021/jf0728698>
- Martínez-Gil, A., Alamo-Sanza, D., Sánchez-Gómez, R., & Nevares, I. (2018). Different woods in cooperage for oenology: A review. *Beverages*, 4(4), 94.

- Martínez-Gil, A., Cadahía, E., Fernandez de Simon, B., Gutiérrez-Gamboa, G., Nevares, I., & del Álamo-Sanza, M. (2018). *Quercus Humboldtii* (Colombian Oak) : Characterisation of wood phenolic composition with respect to traditional oak wood used in oenology.
- Martínez-Gil, A., Cadahía, E., Fernández de Simón, B., Gutiérrez-Gamboa, G., Nevares, I., & del Álamo-Sanza, M. (2019). Phenolic and volatile compounds in *Quercus humboldtii* Bonpl. Wood : Effect of toasting with respect to oaks traditionally used in cooperage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(1), 315-324.
- Masson, E., Baumes, R., Le Guernevé, C., & Puech, J.-L. (2000). Identification of a precursor of β -methyl- γ -octalactone in the wood of sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(9), 4306-4309.
- Masson, E., Baumes, R., Moutounet, M., & Puech, J.-L. (2000). The Effect of Kiln-Drying on the Levels of Ellagitannins and Volatile Compounds of European Oak (*Quercus petraea* Liebl.) Stave Wood. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3), 201-214.
- Masson, G., Guichard, E., Fournier, N., & Puech, J.-L. (1995). Stereoisomers of β -methyl- γ -octalactone. II. Contents in the wood of French (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) and American (*Quercus alba*) oaks. *American journal of Enology and Viticulture*, 46(4), 424-428.
- Masson, G., Moutounet, M., & Puech, J. L. (1995). Ellagitannin Content of Oak Wood as a Function of Species and of Sampling Position in the Tree. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(2), 262-268.
- Masson, G., Puech, J.-L., & Moutounet, M. (1994). Localization of the ellagitannins in the tissues of *Quercus robur* and *Quercus petraea* woods. *Phytochemistry*, 37(5), 1245-1249. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90392-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90392-3)
- Masuda, M., & Nishimura, K. (1971). *Branched nonalactones from some Quercus species*.
- Masuda, M., & Nishimura, K. (1981). Absolute configurations of *Quercus* lactones, (3 S, 4 R)- and (3 S, 4 S)-3-methyl-4-octanolide, from oak wood and chiroptical properties of mono-cyclic γ -lactones. *Chemistry letters*, 10(10), 1333-1336.
- Matricardi, L., & Waterhouse, A. L. (1999). Influence of Toasting Technique on Color and Ellagitannins of Oak Wood in Barrel Making. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 519-526.
- Matsuo, Y., Wakamatsu, H., Omar, M., & Tanaka, T. (2015). Reinvestigation of the stereochemistry of the C-glycosidic ellagitannins, vescalagin and castalagin. *Organic letters*, 17(1), 46-49.
- Mattuschka y Liebein, Flora Fuldensis, 403, 1784

- Mayer, W., Gabler, W., Riester, A., & Korger, H. (1967). Über die gerbstoffe aus dem holz der edelkastanie und der eiche, II. Die isolierung von castalagin, vescalagin, castalin und vescalin. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 707(1), 177-181.
- Mayer, W., Seitz, H., & Jochims, J. C. (1969). Über die Gerbstoffe aus dem Holz der Edelkastanie und der Eiche, IV1) Die Struktur des Castalagins. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 721(1), 186-193.
- Mayer, W., Seitz, H., Jochims, J. C., Schauerte, K., & Schilling, G. (1971). Über die Gerbstoffe aus dem Holz der Edelkastanie und Eiche, VI. Struktur des Vescalagins. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 751(1), 60-68.
- McManus, J. P., Davis, K. G., Lilley, T. H., & Haslam, E. (1981). The association of proteins with polyphenols. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 7, 309b-3311.
- Meierhenrich, U. J. (2006). De la molécule à l'odeur. Les bases moléculaires des premières étapes de l'olfaction. Partie 1/2. *Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestriel d'information professionnelle*, 33(120), 19-23.
- Michel, J., Jourdes, M., Silva, M. A., Giordanengo, T., Mourey, N., & Teissedre, P.-L. (2011). Impact of Concentration of Ellagitannins in Oak Wood on Their Levels and Organoleptic Influence in Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5677-5683. <https://doi.org/10.1021/jf200275w>
- Miller, G. H. (2019). *Whisky Science : A Condensed Distillation*. Springer.
- Monties, B. (1980). *Les polymères végétaux : Polymères pariétaux et alimentaires non azotés*. Gauthier-Villard.
- Monties, B. (1987). Chemical composition of oak wood: Phenolic compounds and their relation with physical and chemical properties related to quality of wines and spirits. *Connaiss Vigne Vin*, 21, 39-60.
- Mosedale, J., Puech, J.-L., & Feuillat, F. (1999). The influence on wine flavor of the oak species and natural variation of heartwood components. *American journal of enology and viticulture*, 50(4), 503-512.

N

- Nabeta, K. (1987). Phenolic compounds from the heartwood of European oak (*Quercus robur* L.) and brandy. *Mokuzai Gakkaishi*, 33, 408-415.
- Nicoli, M., Anese, M., & Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 10(3), 94-100.

- Niemetz, R., & Gross, G. G. (1998). Gallotannin biosynthesis: Purification of β -glucogallin: 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloyl- β -d-glucose galloyltransferase from sumac leaves. *Phytochemistry*, 49(2), 327-332.
- Niemetz, R., & Gross, G. G. (2003). Oxidation of pentagalloylglucose to the ellagitannin, tellimagrandin II, by a phenol oxidase from *Tellima grandiflora* leaves. *Phytochemistry*, 62(3), 301-306. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00557-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00557-5)
- Noble, A. (1994). Bitterness in wine. *Physiology & behavior*, 56(6), 1251-1255.
- Nonaka, G., Sakai, T., Tanaka, T., Mihashi, K., & Nishioka, I. (1990). Tannins and Related Compounds. XCVII: Structure Revision of C-Glycosidic Ellagitannins, Castalagin, Vescalagin, Casuarinin and Stachyurin, and Related Hydrolyzable Tannins. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 38(8), 2151-2156.
- Nonaka, G., Ishimaru, K., Watanabe, M., Nishioka, I., Yamauchi, T., & Wan, A. S. (1987). Tannins and Related Compounds. LI. Elucidation of the Stereochemistry of the Triphenoyl Moiety in Castalagin and Vescalagin, and Isolation of 1-O-Galloyl Castalagin from *Eugenia grandis*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 35(1), 217-220.

O

- OIV. (2009). *Recueil des méthodes internationales d'analyses des vins et des moûts*.
- Okuda, T., Yoshida, T., & Hatano, T. (1993). Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry*, 32(3), 507-521.
- Okuda, T., Yoshida, T., Hatano, T., Yazaki, K., & Ashida, M. (1980). Ellagitannins of the casuarinaceae, stachyuraceae and myrtaceae. *Phytochemistry*, 21(12), 2871-2874. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85058-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85058-8)
- O'MAHONY, M. (1986). Sensory adaptation. *Journal of Sensory Studies*, 1(3-4), 237-258.
- Omar, M., Matsuo, Y., Maeda, H., Saito, Y., & Tanaka, T. (2014). New Metabolites of C-Glycosidic Ellagitannin from Japanese Oak Sapwood. *Organic Letters*, 16(5), 1378-1381. <https://doi.org/10.1021/ol500146a>
- Otsuka, K., Zenibayashi, Y., Itoh, M., & Totsuka, A. (1974). Presence and significance of two diastereomers of β -methyl- γ -octalactone in aged distilled liquors. *Agricultural and Biological Chemistry*, 38(3), 485-490.

P

- Pearl, I., & Darling, S. (1957). Reactions of Vanillin and Its Derived Compounds. XXVIII. Coniferaldehyde and p-Coumaraldehyde. *The Journal of Organic Chemistry*, 22(10), 1266-1267. <https://doi.org/10.1021/jo01361a613>
- Penhoat, C. L. H., & Veronique, M. (1991). Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. roburins A–E. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 7, 1653-1660.
- Petit, E. (2013). *Réactivité de polyphénols du vin sous conditions oxydantes : Hémisynthèse des mongolicaïnes, et d'adduits entre polyphénols et thiols odorants*. Bordeaux.
- Peynaud, É., & Blouin, J. (2013). *Le goût du vin-5e éd : Le grand livre de la dégustation*. Dunod.
- Poisson, L., & Schieberle, P. (2008). Characterization of the most odor-active compounds in an American Bourbon whisky by application of the aroma extract dilution analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(14), 5813-5819.
- Polge, H., & Keller, R. (1973). *Qualité du bois et largeur d'accroissements en forêt Tronçais*. 30(2), 91-125.
- Prida, A., Boulet, J.-C., Ducouso, A., Nepveu, G., & Puech, J.-L. (2006). 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*, 63(4), 415-424.
- Puech, J., Jouret, C., & Goffinet, B. (1985). Évolution des composés phénoliques du bois de chêne au cours du vieillissement de l'armagnac. *Sciences des aliments*, 5(3), 379-391.
- Puech, J. L., Mertz, C., Michon, V., Le Guernevé, C., Doco, T., & Hervé Du Penhoat, C. (1999). Evolution of castalagin and vescalagin in ethanol solutions. Identification of new derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2060-2066.
- Puech, J.-L. (1981). Extraction and Evolution of Lignin Products in Armagnac Matured in Oak. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32(2), 111-114.
- Puech, J.-L., & Moutounet, M. (1992). Phenolic compounds in an ethanol-Water extract of oak wood and in a brandy. *LWT - Food Science and Technology*, 25(4), 350-352. Scopus.
- Puech, J.-L., Rabier, P., & Moutounet, M. (1988). Preparative separation by high-performance liquid chromatography of an extract of oak wood and determination of the composition of each fraction. *Journal of Chromatography A*, 457, 431-436. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)82097-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)82097-5)

Q

- Quideau, S., & Feldman, K. S. (1996). Ellagitannin chemistry. *Chemical Reviews*, 96(1), 475-504.
- Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Montaudon, D., Saucier, C., Glories, Y., Pardon, P., & Pourquier, P. (2005). The Chemistry of Wine Polyphenolic C-Glycosidic Ellagitannins Targeting Human Topoisomerase II. *Chemistry – A European Journal*, 11(22), 6503-6513. <https://doi.org/10.1002/chem.200500428>
- Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Pardon, P., Saucier, C., Teissedre, P., & Glories, Y. (2010). Ellagitannins-an underestimated class of plant polyphenols : Chemical reactivity of C-glucosidic ellagitannins in relation to wine chemistry and biological activity. *Recent advances in polyphenol research, Volume 2*, 81-137.

R

- Recamales, Á. F., Sayago, A., González-Miret, M. L., & Hernanz, D. (2006). The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food research international*, 39(2), 220-229.
- Regalado, E. L., Tolle, S., Pino, J. A., Winterhalter, P., Menendez, R., Morales, A. R., & Rodríguez, J. L. (2011). Isolation and identification of phenolic compounds from rum aged in oak barrels by high-speed countercurrent chromatography/high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization mass spectrometry and screening for antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1218(41), 7358-7364. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.08.068>
- Roper, S. D., & Chaudhari, N. (2017). Taste buds : Cells, signals and synapses. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(8), 485-497.
- Roudnitzky, N., Behrens, M., Engel, A., Kohl, S., Thalmann, S., Hübner, S., Lossow, K., Wooding, S. P., & Meyerhof, W. (2015). Receptor polymorphism and genomic structure interact to shape bitter taste perception. *PLoS genetics*, 11(9), e1005530.

S

- Saleem, M., Kim, H. J., Ali, M. S., & Lee, Y. S. (2005). An update on bioactive plant lignans. *Natural product reports*, 22(6), 696-716.

- SALO, P., NYKÄNEN, L., & SUOMALAINEN, H. (1972). Odor thresholds and relative intensities of volatile aroma components in an artificial beverage imitating whisky. *Journal of Food Science*, 37(3), 394-398.
- Sanz, M., de Simón, B. F., Cadahía, E., Esteruelas, E., Muñoz, Á. M., Hernández, M. T., & Estrella, I. (2012). Polyphenolic profile as a useful tool to identify the wood used in wine aging. *Analytica chimica acta*, 732, 33-45.
- Sarni, F., Moutounet, M., Puech, J.-L., & Rabier, P. (1990). Effect of heat treatment of oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, 44, 461-466.
- Scalbert, A., Monties, B., Dupouey, J. L., & Becker, M. (1986). Polyphénols extractibles du bois de chêne : Variabilité interspécifique, interindividuelle et effet de la duraminisation. *Bulletin de Liaison du groupe polyphenol*, 13, 617-619.
- Scalbert, A., Monties, B., & Favre, J.-M. (1988). Polyphenols of *Quercus robur* : Adult tree and in vitro grown calli and shoots. *Phytochemistry*, 27(11), 3483-3488. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80753-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80753-2)
- Schwarz, M., Rodríguez, M. C., Guillén, D. A., & Barroso, C. G. (2011). Analytical characterisation of a Brandy de Jerez during its ageing. *European Food Research and Technology*, 232(5), 813-819. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1448-2>
- Schwarz, M., Rodríguez, M., Martínez, C., Bosquet, V., Guillén, D., & Barroso, C. G. (2009). Antioxidant activity of Brandy de Jerez and other aged distillates, and correlation with their polyphenolic content. *Food Chemistry*, 116(1), 29-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.096>
- Seikel, M. K., Hostettler, F. D., & Niemann, G. J. (1971). Phenolics of *Quercus rubra* wood. *Phytochemistry*, 10(9), 2249-2251. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97238-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97238-8)
- Shepherd, G. M. (2006). Smell images and the flavour system in the human brain. *Nature*, 444(7117), 316-321.
- Silva, F. A. da, Morais, K. C. R. C., Ribeiro, K. O., Garcia, L. G. C., & Caliar, M. (2020). Evolution of the content of phenolic compounds, antioxidant activity and color in organic sugarcane spirit aged in barrels of different woods. *Research, Society and Development*, 9(5), 138953302. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i5.3302>
- Sindt, L., Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2016). Taste-guided isolation of bitter lignans from *Quercus petraea* and their identification in wine. *Journal of natural products*, 79(10), 2432-2438.
- Sjostrom, E. (1993). *Wood chemistry: Fundamentals and applications*. Gulf professional publishing.

- Smith, A. K., June, H., & Noble, A. C. (1996). Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. *Food quality and preference*, 7(3-4), 161-166.
- Soares, S., Brandão, E., Garcia-Estevez, I., Fonseca, F., Guerreiro, C., Ferreira-da-Silva, F., Mateus, N., Deffieux, D., Quideau, S., & de Freitas, V. (2019). Interaction between Ellagitannins and salivary proline-rich proteins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(34), 9579-9590.
- Sun, Z. (2013). *Accelerated seasoning of Manuka and Oak Wood chips destined for wine and spirit flavour* [Thesis, Auckland University of Technology].
<https://openrepository.aut.ac.nz/handle/10292/5236>
- Suomalainen, H., & Nykänen, L. (1970). Composition of whisky flavour. *Process Biochem*, 5(7), 13-18.

T

- Tao, Y. (2014). *The impact of whisky blend matrices on the sensory perception of peaty flavours*.
- Thibaud, F., Courregelongue, M., & Darriet, P. (2020). Contribution of Volatile Odorous Terpenoid Compounds to Aged Cognac Spirits Aroma in a Context of Multicomponent Odor Mixtures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06656>
- Thibaud, F., Peterson, A., Urruty, L., Mathurin, J.-C., Darriet, P., & Pons, A. (2021). Sensorial Impact and Distribution of 3-Methyl-2, 4-nonanedione in Cognacs and Spirits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(15), 4509-4517.
- Thibaud, F., Shinkaruk, S., & Darriet, P. (2019). Quantitation, organoleptic contribution, and potential origin of diethyl acetals formed from various aldehydes in Cognac. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(9), 2617-2625.
- Tibiriçá, E. (2001). Cardiovascular properties of yangambin, a lignan isolated from Brazilian plants. *Cardiovascular drug reviews*, 19(4), 313-328.

V

- Viriot, Carole., Scalbert, Augustin., Lapierre, Catherine., & Moutounet, Michel. (1993). Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 1872-1879. <https://doi.org/10.1021/jf00035a013>
- Vivas, N. (2002). *Manuel de tonnellerie à l'usage des utilisateurs de futaille*. Féret.

- Vivas, N., Abasalon, C., Benost, F., Vitry, C., Grazillier, S., De Revel, G., & Bertrand, A. (2001). Les chênes européens *Q. robur* L. et *Q. petraea* : Analyse des potentialités oenologiques des différents massifs forestiers. *Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques*, 31-37.
- Vivas, N., Bourden-Nonier, M.-F., de Gaulejac, N. V., Mouche, C., & Rossy, C. (2020a). Origin and characterisation of the extractable colour of oak heartwood used for ageing spirits. *Journal of Wood Science*, 66(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s10086-020-01866-3>
- Vivas, N., Bourden-Nonier, M.-F., de Gaulejac, N. V., Mouche, C., & Rossy, C. (2020b). Origin and characterisation of the extractable colour of oak heartwood used for ageing spirits. *Journal of Wood Science*, 66(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s10086-020-01866-3>
- Vivas, N., Gaulejac, N. V. de, Vitry, C., Mouche, C., Kahn, N., Nonier-Bourden, M. F., & Absalon, C. (2013). Impact of ethanol content on the scavenging activities of oak wood C-glycosidic ellagitannins. Application to the evaluation of the nutritional status of spirits. *Journal of the Institute of Brewing*, 119(3), 116-125. <https://doi.org/10.1002/jib.70>
- Vivas, N., Nonier, M.-F., de Gaulejac, N. V., & de Boissel, I. P. (2004). Occurrence and partial characterization of polymeric ellagitannins in *Quercus petraea* Liebl. And *Q. robur* L. wood. *Comptes Rendus Chimie*, 7(8-9), 945-954. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2004.06.004>
- Vivas, N., Vivas de Gaulejac, N., Bourden-Nonier, M.-F., Mouche, C., & Rossy, C. (2020). Extraction of phenolics from new oak casks during spirit maturation: Impact on spirit colour: Extraction of phenolics from new oak casks during spirit maturation: impact on spirit colour. *Journal of the Institute of Brewing*, 126(1), 83-89. <https://doi.org/10.1002/jib.586>

W

- Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., & Jeffery, D. W. (2016). *Understanding Wine Chemistry*. John Wiley & Sons.
- Winstel, D., Gautier, E., & Marchal, A. (2020). Role of Oak Coumarins in the Taste of Wines and Spirits : Identification, Quantitation, and Sensory Contribution through Perceptive Interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(28), 7434-7443. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02619>

Winstel, D., & Marchal, A. (2018). Lignans in Spirits: Chemical Diversity, Quantification, and Sensory Impact of (±)-Lyoniresinol. *Molecules*, 24(1), 117. <https://doi.org/10.3390/molecules24010117>

Z

Zamora, F. (2019). Barrel Aging; Types of Wood. In *Red Wine Technology* (p. 125-147). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814399-5.00009-8>

Zhang, B., Cai, J., Duan, C.-Q., Reeves, M. J., & He, F. (2015). A Review of Polyphenolics in Oak Woods. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 6978-7014. <https://doi.org/10.3390/ijms16046978>

ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Table du χ^2 225

Annexe 2. Table de significativité du test triangulaire..... 226

Annexe 1. Table du χ^2

p	0,999	0,995	0,99	0,98	0,95	0,9	0,8	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,001
ddl														
1	0,0000	0,0000	0,0002	0,0006	0,0039	0,0158	0,0642	1,6424	2,7055	3,8415	5,4119	6,6349	7,8794	10,8276
2	0,0020	0,0100	0,0201	0,0404	0,1026	0,2107	0,4463	3,2189	4,6052	5,9915	7,8240	9,2103	10,5966	13,8155
3	0,0243	0,0717	0,1148	0,1848	0,3518	0,5844	1,0052	4,6416	6,2514	7,8147	9,8374	11,3449	12,8382	16,2662
4	0,0908	0,2070	0,2971	0,4294	0,7107	1,0636	1,6488	5,9886	7,7794	9,4877	11,6678	13,2767	14,8603	18,4668
5	0,2102	0,4117	0,5543	0,7519	1,1455	1,6103	2,3425	7,2893	9,2364	11,0705	13,3882	15,0863	16,7496	20,5150
6	0,3811	0,6757	0,8721	1,1344	1,6354	2,2041	3,0701	8,5581	10,6446	12,5916	15,0332	16,8119	18,5476	22,4577
7	0,5985	0,9893	1,2390	1,5643	2,1673	2,8331	3,8223	9,8032	12,0170	14,0671	16,6224	18,4753	20,2777	24,3219
8	0,8571	1,3444	1,6465	2,0325	2,7326	3,4895	4,5936	11,0301	13,3616	15,5073	18,1682	20,0902	21,9550	26,1245
9	1,1519	1,7349	2,0879	2,5324	3,3251	4,1682	5,3801	12,2421	14,6837	16,9190	19,6790	21,6660	23,5894	27,8772
10	1,4787	2,1559	2,5582	3,0591	3,9403	4,8652	6,1791	13,4420	15,9872	18,3070	21,1608	23,2093	25,1882	29,5883
11	1,8339	2,6032	3,0535	3,6087	4,5748	5,5778	6,9887	14,6314	17,2750	19,6751	22,6179	24,7250	26,7568	31,2641
12	2,2142	3,0738	3,5706	4,1783	5,2260	6,3038	7,8073	15,8120	18,5493	21,0261	24,0540	26,2170	28,2995	32,9095
13	2,6172	3,5650	4,1069	4,7654	5,8919	7,0415	8,6339	16,9848	19,8119	22,3620	25,4715	27,6882	29,8195	34,5282
14	3,0407	4,0747	4,6604	5,3682	6,5706	7,7895	9,4673	18,1508	21,0641	23,6848	26,8728	29,1412	31,3193	36,1233
15	3,4827	4,6009	5,2293	5,9849	7,2609	8,5468	10,3070	19,3107	22,3071	24,9958	28,2595	30,5779	32,8013	37,6973
16	3,9416	5,1422	5,8122	6,6142	7,9616	9,3122	11,1521	20,4651	23,5418	26,2962	29,6332	31,9999	34,2672	39,2524
17	4,4161	5,6972	6,4078	7,2550	8,6718	10,0852	12,0023	21,6146	24,7690	27,5871	30,9950	33,4087	35,7185	40,7902
18	4,9048	6,2648	7,0149	7,9062	9,3905	10,8649	12,8570	22,7595	25,9894	28,8693	32,3462	34,8053	37,1565	42,3124
19	5,4068	6,8440	7,6327	8,5670	10,1170	11,6509	13,7158	23,9004	27,2036	30,1435	33,6874	36,1909	38,5823	43,8202
20	5,9210	7,4338	8,2604	9,2367	10,8508	12,4426	14,5784	25,0375	28,4120	31,4104	35,0196	37,5662	39,9968	45,3147
21	6,4467	8,0337	8,8972	9,9146	11,5913	13,2396	15,4446	26,1711	29,6151	32,6706	36,3434	38,9322	41,4011	46,7970
22	6,9830	8,6427	9,5425	10,6000	12,3380	14,0415	16,3140	27,3015	30,8133	33,9244	37,6595	40,2894	42,7957	48,2679
23	7,5292	9,2604	10,1957	11,2926	13,0905	14,8480	17,1865	28,4288	32,0069	35,1725	38,9683	41,6384	44,1813	49,7282

Annexe 2. Table de significativité du test triangulaire

Nombre de tests réalisés	Nombres critiques		
	Seuil		
	5 %	1 %	0,1 %
5	4	5	5
6	5	6	6
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17
26	14	15	17
27	14	16	18
28	15	16	18
29	15	17	19
30	16	17	19
31	16	18	19
32	16	18	20
33	17	19	20
34	17	19	21
35	18	19	21
36	18	20	22
37	18	20	22
38	19	21	23
39	19	21	23
40	20	22	24

Structures chimiques et évolution de la composition en ellagitannins dans les bois et spiritueux : étude sur les eaux-de-vie de Cognac.

Les polyphénols et les composés volatils sont les principaux composés extractibles du bois de chêne qui peuvent influencer la qualité des vins et des spiritueux. La qualité du vin a fait l'objet de nombreuses études tandis que celle de spiritueux est peu étudiée. Plus de 500 composés aromatiques ont été détectés à Cognac, mais les composés phénoliques du bois de chêne et plus particulièrement les ellagitannins ont peu été étudiés jusqu'à présent dans ce type de matrice. L'extraction de ces composés est fortement impactée par les processus de tonnellerie tels que le séchage du bois et la chauffe lors de la fabrication de la barrique. Le vieillissement joue également un rôle important sur les transformations de ces composés au cours du temps. Au regard du manque de connaissances actuel sur l'évolution de ces composés dans les eaux-de-vie de Cognac ainsi que sur leur impact organoleptique, l'objectif de cette thèse était d'étudier cette famille de composés dans les eaux-de-vie de Cognac tout au long de l'élevage, et de voir l'impact des processus de tonnellerie sur leurs teneurs. Comme ces composés peuvent subir des modifications au cours du temps, leurs composés d'évolution ont été recherchés, ainsi que leur impact organoleptique sur les eaux-de-vie. Afin de réaliser ces objectifs, une méthode de dosage des ellagitannins dans les bois et eaux-de-vie par HPLC-Triple quadripôle a été mise en place et validée au laboratoire. L'UPLC-UV-Q-ToF a été utilisé pour la recherche de composés d'évolution des ellagitannins, ainsi que la RMN pour leur élucidation structurale. Des analyses sensorielles ont été réalisées en parallèle afin de décrire caractériser les différences sensorielles des eaux-de-vie impactées par la chauffe de la barrique. L'impact organoleptique des ellagitannins a été démontrée pour la première fois dans les spiritueux. Les résultats de cette étude ont montré que le séchage du bois influence les teneurs en ellagitannins. Ces derniers sont impactés par l'origine géographique des bois, ainsi que par l'arrosage. La chauffe influe également sur les teneurs en ellagitannins, car une chauffe forte entraîne une dégradation de ces composés. Ils sont fortement extraits par les eaux-de-vie lors des premiers mois du vieillissement, puis ils se transforment pour donner des composés d'évolution des ellagitannins du bois. Un suivi des composés dans les eaux-de-vie en vieillissement a été effectué. Des composés d'évolution ont été retrouvés et quantifiés pour la première fois dans cette matrice, mais des composés inconnus ont également été isolés, identifiés et quantifiés pour la première fois. L'impact organoleptique des ellagitannins et de leurs nouvelles structures a été recherché.

Mots clés : Bois de chêne, Cognac, polyphénols, ellagitannins, analyse sensorielle, UPLC-HRMS

Chemical structures and evolution of ellagitannin composition in woods and spirits: a study of Cognac eaux-de-vie.

Polyphenols and volatile compounds are the main extractable compounds from oak wood that can influence wine and spirits quality. Wine quality has been extensively studied, while the spirits quality is lacking knowledge. More than 500 aromatic compounds have been detected in Cognac, but oak wood phenolic compounds and more particularly the ellagitannins have not been studied profoundly until now in this type of matrix. The extraction of these compounds is strongly impacted by cooperage processes such as wood drying and toasting during barrel manufacturing. Moreover, ageing also plays an important role in their transformation over time. Given the current lack of knowledge on the evolution of these compounds in Cognac eaux-de-vie and their organoleptic impact, the objective of this study was to explore this family of compounds in Cognac eaux-de-vie throughout ageing process, and to see the impact of cooperage processes on their content. As these compounds can undergo changes over time, their evolutionary forms were investigated, as well as their organoleptic impact on the eaux-de-vie. In order to achieve these objectives, a method for ellagitannins quantification in oak woods and eaux-de-vie by HPLC-Triple Quadrupole was developed and validated in the laboratory. UPLC-UV-Q-ToF was used for searching ellagitannin-derived spirit compounds, as well as NMR spectroscopy for structural elucidation. Sensory analysis was carried out in parallel. According to the results obtained, drying influences the ellagitannin content. The latter are affected by the geographical origin of the wood, as well as by watering process. Toasting also influences the ellagitannin content, as high toast leads to these compounds' degradation. They are strongly extracted during the first year of ageing, and then they are transformed into new derived ellagitannin compounds. Monitoring of the compounds in the aged eaux-de-vie was carried out. Ellagitannin-derived spirit compounds were found and quantified for the first time in this matrix, but also unknown compounds were isolated, identified and quantified for the first time. The organoleptic impact of ellagitannins and their new structures was investigated.

Keywords: Oak wood, Cognac, polyphenols, ellagitannins, sensory analysis, UPLC-HRMS