



**HAL**  
open science

# Etude sur les déterminants moléculaires du bouquet de vieillissement des vins. Impact de l'OTR de l'obturateur

Emilie Suhas

## ► To cite this version:

Emilie Suhas. Etude sur les déterminants moléculaires du bouquet de vieillissement des vins. Impact de l'OTR de l'obturateur. Sciences agricoles. Université de Bordeaux, 2023. Français. NNT : 2023BORD0458 . tel-04496108

**HAL Id: tel-04496108**

**<https://theses.hal.science/tel-04496108v1>**

Submitted on 8 Mar 2024

**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.

THESE PRESENTEE  
POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE**  
**L'UNIVERSITE DE BORDEAUX**

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE  
SPECIALITE OENOLOGIE

Par Emilie SUHAS

ETUDE SUR LES DETERMINANTS MOLECULAIRES DU BOUQUET  
DE VIEILLISSEMENT DES VINS. IMPACT DE L'OXYGEN TRANSFER  
RATE (OTR) DE L'OBTURATEUR

Sous la direction de : Alexandre PONS

Soutenu le **19/12/2023**

Membres du jury :

Mme	COLLIN Sonia	Professeure, Université catholique de Louvain	Présidente
Mme	ROLAND Aurélie	Maitre de conférences, SupAgro, Montpellier	Rapporteur
Mr	UGLIANO Maurizio	Professeur, Université de Vérone	Rapporteur
Mme	LAGORCE-TACHON Aurélie	Maitre de conférences, Institut Agro, Dijon	Examinatrice
Mr	LOISEL Christophe	Directeur R&D DIAM Bouchage, Céret	Membre Invité



## Remerciements

Cette opportunité de travailler sur un sujet aussi passionnant qu'innovant, m'a été offerte par le Docteur PONS Alexandre, chercheur détaché de la tonnellerie Seguin Moreau. Je tenais à le remercier pour la confiance qu'il m'a accordée afin de mener à bien ce projet de recherche. A ses côtés, j'ai pu me former et évoluer dans ce domaine durant ces trois années au cours desquelles il a su me guider, m'encourager, et me partager son expérience, ses compétences techniques et scientifiques, ses métaphores et sa passion pour le vin. La liberté qu'il m'a laissée, le soutien, l'exigence et la disponibilité dont il a fait preuve ont été décisifs à l'accomplissement de ce travail. Qu'il soit assuré de mon entière reconnaissance et de ma plus profonde gratitude.

Madame COLLIN Sonia, professeure à l'Université catholique de Louvain m'a fait l'immense honneur de présider le jury de cette thèse. Je lui témoigne ma très respectueuse gratitude.

Madame ROLAND Aurélie Docteure et Maître de conférences à l'institut Agro de Montpellier ainsi que le Professeur UGLIANO Maurizio de l'Université de Vérone en Sciences et technologies des aliments, ont accepté d'évaluer ces travaux en tant que rapporteurs. Je les remercie pour cet honneur, pour leur intérêt porté à mes travaux de recherche et pour les conseils qu'ils m'ont apportés.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Madame LAGORCE-TACHON Aurélie, Maître de conférences et professeure associée à l'institut Agro Dijon d'avoir accepté de faire parti de ce jury en qualité d'examinatrice. Je lui suis très reconnaissante.

Je remercie particulièrement Monsieur LOISEL Christophe, directeur du pôle recherche et développement de l'entreprise de bouchons en liège microaggloméré DIAM Bouchage à Céret, d'avoir participé à ce jury en tant que membre invité et surtout d'avoir supporté ce projet et de m'avoir soutenue, guidée, et conseillée. Je tenais à lui faire preuve de mon entière gratitude pour son implication durant ces trois années.

Je tiens à remercier l'entreprise DIAM Bouchage pour les opportunités qu'ils m'ont donné à la fois pour le financement de ce projet ainsi que pour mener à bien ces travaux et les valoriser. Je remercie par la même occasion les membres du pôle recherche et développement et particulièrement Monsieur GALY Nicolas et Monsieur TIXADOR Dimitri pour les nombreux échanges, conseils et informations qu'ils ont su m'apporter pour mieux comprendre les enjeux de ce projet à l'échelle industrielle.

Je remercie Madame POIX-SHINKARUK Svitlana, Ingénieure de recherche Chimiste organicienne à l'Institut de sciences moléculaires de Bordeaux, pour son aide au développement d'une partie de ses travaux en chimie organique. Je la remercie particulièrement pour son

implication, ses conseils, sa bienveillance, sa patience et son intérêt pour ce sujet. Elle a grandement éveillé mon attrait pour la chimie organique appliquée à l'œnologie.

Je tiens à remercier le Professeur DARRIET Phillippe pour l'accueil au sein de son laboratoire et pour les échanges scientifiques que nous avons pu avoir.

Un grand merci à l'ensemble de l'équipe du laboratoire pour leur soutien, leur conseil, et leur bonne humeur. Je tiens à exprimer particulièrement ma gratitude à Cécile pour tout ces moments à réparer le TSQ. Merci à Pascaline pour son aide, ses explications et ces chocolats, et merci à Marie C, d'avoir été l'exemple dont j'avais besoin en toutes circonstances. Bien évidemment merci à Pei, Marie LS, Tom, Emilio, Marine, Delphine Axel, Phillippine, et Liang.

Je tenais également à remercier les stagiaires ayant participé à ce projet et particulièrement Maureen de m'avoir prêté son nez pour réaliser une grande partie des analyses en GC-O. Un grand merci également à l'ensemble des dégustateurs (membres de l'ISVV et professionnels de la filière) ayant participé à mes analyses sensorielles.

Je salue amicalement l'ensemble des collègues de l'ISVV, ceux avec qui j'ai débuté en stage de master, Claudia, Fabrice, Rémy, Marion, Rémy, Etienne, Michael, Gauthier, Anne-Laure, Alicia, Clément et Mathilde et ceux que j'ai pu découvrir au cours de la thèse, les rouges, les verts et les membres de l'ISM que j'ai été amené à côtoyer.

Remerciements tout particuliers à mes plus belles rencontres : ma Laura et Marc (la star), empreinteurs de machines au départ amis par la suite.

Merci à tous les membres de l'ADPI, des fondateurs aux plus récents, d'avoir partagé la réalisation de nos divers projets associatifs.

Pour finir, merci à mes amis, mes coéquipiers et ma famille pour ce soutien, ce réconfort au travers des moments de ma vie comme celui-ci.

## Valorisation des travaux de recherche

### ➤ Communications orales

Suhas, E.; Thibon, C.; Loisel, C.; Darriet, P.; Pons, A. OTR determination of aged closures: Impact on aroma compounds composition of Sauvignon Blanc wines. Wine Active Compounds (WAC) 2022, Dijon, France, June 28-July 1 2022.

Suhas, E.; Thibon, C.; Loisel, C.; Pons, A. Determination of OTR by coulometry: impact on aroma compounds composition of Sauvignon Blanc wines, Enoforum 2023, Vicenza Italie, May 16-18 2023.

Suhas, E.; Shinkaruk, S.; Pons, A. Optimizing the identification of thiols in red wines using new oak wood accelerated reductive treatment (A.R.T.) Oeno-Macrowine, 2023, Bordeaux, France, July 10-13 2023.

### ➤ Communications affichées

Suhas, E.; Shinkaruk, S.; Pons, A. Optimizing the identification of thiols in red wines using new oak wood accelerated reductive treatment (A.R.T.) Oeno-Macrowine, 2023, Bordeaux, France, July 10-13 2023.

### ➤ Publications

Pons, A., Lavigne, V., Suhas, E., Thibon, C., Redon, P., Loisel, C., & Darriet, P. (2022). Impact of the Closure Oxygen Transfer Rate on Volatile Compound Composition and Oxidation Aroma Intensity of Merlot and Cabernet Sauvignon Blend: A 10 Years Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(51), 16358–16368. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c07475>

Suhas, E., Shinkaruk, S., & Pons, A. (2024). Optimizing the identification of thiols in red wines using new oak-wood accelerated reductive treatment. *Food Chemistry*, 437, 137859. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137859>



# Sommaire

<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>.....</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>.....</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>.....</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE 1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE L'EVOLUTION AROMATIQUE DES VINS AU COURS DE LA CONSERVATION EN BOUTEILLE.....</b>	<b>5</b>
1. LES VINS DE BORDEAUX : DIVERSITE AROMATIQUE ET POTENTIEL DE GARDE.....	7
1.1. Contexte historique et terroir des vins de Bordeaux.....	7
1.2. Notion de typicité aromatique des vins de Bordeaux.....	8
1.3. Expression et composante aromatique du vieillissement des vins.....	10
1.3.1. Notion de composé d'arôme et de composé d'impact.....	10
1.3.2. Le bouquet de vieillissement : un concept sensoriel complexe.....	11
2. CARACTERISATION MOLECULAIRE DE L'AROME DES VINS AU COURS DE LEUR CONSERVATION EN BOUTEILLE.....	13
2.1. Les C13-norisoprénoïdes.....	13
2.2. Les terpènes.....	15
2.3. Les méthoxypyrazines.....	17
2.4. Les furanones et les lactones.....	17
2.5. Les esters.....	18
2.6. Les composés cédés par le bois (lactones, aldéhydes, phénols...).....	19
2.7. Les composés soufrés.....	21
3. IMPACT DE L'OXYGENE SUR L'AROME DES VINS CONSERVES EN BOUTEILLE.....	26
3.1. Caractérisation sensorielle et moléculaire de l'évolution du vin en lien avec à un apport insuffisant en oxygène : le défaut de réduction.....	26
3.2. Caractérisation sensorielle et moléculaire de l'évolution du vin en lien avec un excès d'oxygène : le défaut d'oxydation.....	27
3.2.1. Mécanismes chimiques associés.....	27
3.2.2. Dégradation de composés odorants.....	28
3.2.3. Formation de composés odorants.....	28
3.2.3.1. Composés carbonylés de type aldéhydes de Strecker.....	29
3.2.3.2. Le sotolon.....	29
3.2.3.3. Formation de l'éthanal et de ses dérivés.....	30
3.2.3.4. La 3-méthyl-2,4-nonanedione (MND).....	30
3.2.4. Aspects moléculaires et technologiques de la préservation de l'équilibre aromatique des vins au cours du vieillissement en bouteille.....	31
<b>CHAPITRE 2. CONNAISSANCES SUR L'OTR DES OBTURATEURS ET SON IMPACT SUR L'EVOLUTION DES VINS.....</b>	<b>33</b>



1. PRESENTATION ET CARACTERISTIQUES TECHNIQUES DES DIFFERENTS OBTURATEURS PRESENTS SUR LE MARCHÉ.....	35
1.1. Généralités .....	35
1.1.1. Les différents types d'obturateurs présents sur le marché .....	35
1.1.2. Les bouchons en liège.....	35
1.2. Les différentes caractéristiques techniques d'un obturateur de qualité .....	37
1.2.1. Caractéristiques mécaniques d'un obturateur .....	37
1.2.2. Propriétés organoleptiques de l'obturateur .....	38
1.2.3. Caractérisation et quantification de l'apport en oxygène par l'obturateur .....	38
1.3. Les méthodes de mesure de l'OTR.....	40
1.3.1. Titration au SO <sub>2</sub> .....	40
1.3.2. Mesure par colorimétrie.....	40
1.3.3. Mesure par électroluminescence .....	40
1.3.4. Mesure par manométrie .....	41
1.3.5. Mesure par coulométrie .....	41
1.3.6. Bilan .....	42
1.4. Distribution et comparaison des niveaux d'OTR des bouchons retrouvés sur le marché .....	43
2. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES ETUDES TRAITANT DE L'IMPACT DE L'OBTURATEUR SUR L'EVOLUTION AROMATIQUE ET LA COMPOSITION DES VINS .....	44
2.1. Généralités .....	44
2.2. Mesure de la perméabilité à l'oxygène des obturateurs .....	45
2.3. Impact de l'obturateur sur les paramètres œnologiques .....	46
2.4. Impact de l'obturateur sur l'équilibre aromatique des vins .....	47
2.5. Impact de l'obturateur sur l'évolution de la composition moléculaire fine.....	47
2.6. Bilan.....	48
<b>CHAPITRE 3. L'ETUDE DE L'AROME DES VINS : ASPECTS ANALYTIQUES ET METHODOLOGIQUES.....</b>	<b>57</b>
1. METHODE D'IDENTIFICATION ET DE QUANTIFICATION DES COMPOSES D'AROMES.....	60
1.1. Les techniques d'extraction des composés d'arômes .....	60
1.1.1. Extraction liquide-liquide (LLE) .....	60
1.1.2. Extraction sur phase solide (SPE).....	60
1.1.3. Micro-extraction sur phase solide (SPME).....	61
1.1.4. Méthodes d'extraction complémentaires .....	61
1.2. Méthodes de séparation et d'analyse .....	62
1.2.1. Fractionnement par HPLC.....	62
1.2.2. Technique de séparation des composés volatils par chromatographie en phase gazeuse (GC) .....	62
1.2.2.1. Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle .....	62
1.2.2.2. Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle avec coupe au cœur (Heart-cutting) ..	63
1.2.3. Les détecteurs utilisés lors de la recherche et la quantification des composés d'arômes .....	64
1.2.3.1. L'olfactométrie.....	65
1.2.3.2. Les détecteurs physiques.....	66
1.3. Validation d'une méthode de quantification.....	67

1.3.1.	Justesse.....	67
1.3.2.	Répétabilité.....	67
1.3.3.	Linéarité.....	67
1.3.4.	Evaluation de la sensibilité.....	68
2.	L'ANALYSE SENSORIELLE.....	68
2.1.	<i>Généralités sur la mise en place d'une séance d'analyse sensorielle</i> .....	68
2.2.	<i>Différentes épreuves en analyse sensorielle</i> .....	69
2.2.1.	Epreuves discriminatives.....	69
2.2.2.	Epreuves descriptives.....	70
2.2.3.	Cas particulier de la réalisation des seuils de perception.....	70
	OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	71
	<b>CHAPITRE 4. ETUDE DE L'IMPACT DU TYPE D'OBTURATEUR ET DU NIVEAU D'OTR SUR LA COMPOSITION ET L'AROME DES VINS DE SAUVIGNON DE BORDEAUX.....</b>	<b>75</b>
1.	INTRODUCTION.....	79
2.	MATERIALS AND METHODS.....	82
2.1.	<i>Reagents</i> .....	82
2.2.	<i>Wine samples</i> .....	82
2.2.1.	White wines from Pessac Leognan appellation (Exp. 1).....	82
2.2.2.	Sauvignon blanc wines selected for OTR measurements (Exp. 2, Step 1).....	83
2.2.3.	Selection for sensory analysis of aroma compound composition (Exp 2, Step 2).....	83
2.3.	<i>OTR determination by coulometry</i> .....	84
2.4.	<i>Analysis of thiols and Strecker aldehydes by GC-MS/MS</i> .....	85
2.4.1.	Sample extraction by solid phase extraction (SPE).....	85
2.4.2.	Gas chromatography – mass spectrometry conditions.....	85
2.5.	<i>Quantification of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN)</i> .....	86
2.5.1.	Sample preparation and HS-SPME extraction.....	86
2.5.2.	Gas chromatography-mass spectrometry conditions.....	86
2.6.	<i>Standard oenological parameters and dissolved carbon dioxide (DCO<sub>2</sub>)</i> .....	86
2.7.	<i>Sensory Analysis</i> .....	87
2.7.1.	Monadic profiles.....	87
2.7.2.	Discrimination test.....	87
2.8.	<i>Data Analysis</i> .....	87
3.	RESULTS AND DISCUSSION.....	88
3.1.	<i>Impact of closure type on composition of several white wines within the same appellation after 6 years of aging</i> .....	88
3.1.1.	Selection of the wines and composition.....	88
3.1.2.	Sensory and analytical evaluation of white wines from the same appellation after 6 years of aging.....	89
3.1.3.	Impact of stopper type on sensory balance and chemical composition of white wines from the same appellation after 6 years of aging.....	91

3.2.	<i>OTR measurement of closures and composition and sensory perception of aged wines after 12 years of aging</i> .....	95
3.2.1.	OTR of closures from aged wines (Exp.2, Step 1) .....	95
3.2.2.	Assay of OTR <sub>12y</sub> for different closures and impact on chemical composition of a Sauvignon blanc wine (Exp.2, Step 2).....	96
3.2.3.	Impact of OTR level after 12 years of bottle aging on sensory and chemical composition of a white wine sealed with various stopper types (Exp 2, Step 3) .....	102
3.3.	<i>Impact of stopper type on specific aroma evolution: the case of petroleum character</i> .....	104
4.	CONCLUSION .....	107
5.	SUPPLEMENTARY DATA .....	109
<b>CHAPITRE 5. ETUDE DE LA CONTRIBUTION DE NOUVEAUX ALDEHYDES INSATURES AU BOUQUET DE VIEILLISSEMENT DES VINS BLANCS DE SAUVIGNON ELEVES SOUS-BOIS DE CHENE (Q. PETRAEA) .....</b>		<b>113</b>
1.	INTRODUCTION ET OBJECTIFS .....	117
2.	MATERIELS ET METHODES .....	118
2.1.	<i>Sélection des vins</i> .....	118
2.2.	<i>Méthode de quantification des aldéhydes insaturés dans les vins</i> .....	119
2.2.1.	Protocole d'extraction .....	119
2.2.2.	Analyse des extraits organiques par GC-MS (NCI, MeOH).....	120
2.3.	<i>Quantification des thiols volatils par SPE GC-MS/MS</i> .....	120
2.4.	<i>Protocoles d'analyse sensorielle</i> .....	120
3.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	121
3.1.	<i>Impact du type d'obturateur sur les teneurs des isomères du 2,4,6-nonatriénal et du trans-4,5-époxy-(E)-2-décénal des vins blancs de sauvignon</i> .....	121
3.2.	<i>Caractérisation sensorielle des vins blancs de sauvignon selon leur teneur en (2E,4E,6Z)-nonatriénal</i> .....	125
3.2.1.	Impact du type d'obturateur sur l'évolution oxydative du vin PL.1.....	126
3.2.2.	Impact du (2E,4E,6Z) du nonatriénal sur l'arôme d'un vin blanc conservé 14 ans .....	126
3.3.	<i>Etude de la contribution du (2E,4E,6Z)-nonatriénal à l'arôme du vin selon le type d'obturateur</i> 128	
4.	CONCLUSION .....	130
<b>CHAPITRE 6. CARACTERISATION DES COMPOSES D'IMPACT EN LIEN AVEC LE BOUQUET D'EVOLUTION DES VINS ROUGES : APPROCHE CONVENTIONNELLE.....</b>		<b>135</b>
1.	INTRODUCTION .....	137
2.	MATERIELS ET METHODES .....	137
2.1.	<i>Sélection des vins rouges</i> .....	137
2.1.1.	Vins sélectionnés pour le travail de caractérisation et de quantification.....	137
2.1.2.	Vins sélectionnés pour le travail de quantification.....	138
2.2.	<i>Réactifs et produits chimiques</i> .....	138

2.3.	<i>Extraction des composés volatils</i> .....	138
2.4.	<i>Purification par fractionnement en chromatographie liquide à haute performance (HPLC)</i>	138
2.5.	<i>Chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O)</i> .....	139
2.6.	<i>Chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse à temps de vol (GC-O-TOF MS)</i> .....	139
2.7.	<i>Purification des formes énantiomère de l'abhexone</i> .....	140
2.8.	<i>Quantification par GC MS/MS</i> .....	140
2.8.1.	Extraction des composés volatils pas extraction sur phase solide (SPE).....	140
2.8.2.	Quantification de l'abhexone par GC-MS/MS.....	140
2.9.	<i>Analyse sensorielle</i> .....	141
2.9.1.	Analyse des fractions HPLC.....	141
2.9.2.	Détermination des seuils de détection olfactifs.....	141
2.9.3.	Impact de l'ajout croissant du composé sur l'arôme d'un vin rouge par profils monadiques.....	142
2.9.4.	Réalisation du profil sensoriel d'un vin rouge en fonction de la qualité de l'obturateur.....	142
2.10.	<i>Analyses statistiques</i> .....	142
3.	RESULTATS.....	143
3.1.	<i>Caractérisation de l'évolution des vins rouges en lien avec la perméabilité à l'oxygène des obturateurs</i> .....	143
3.1.1.	Sélection des vins.....	143
3.1.2.	Recherche et caractérisation des zones odorantes associées à l'évolution des vins rouges en fonction de la perméabilité en oxygène de l'obturateur.....	143
3.1.2.1.	Caractérisation moléculaire des vins par GC-O.....	143
3.1.2.2.	Mise en évidence de fractions d'intérêt par fractionnement HPLC.....	145
3.1.3.	Caractérisation de la fraction F24.....	147
3.1.3.1.	Identification d'une ZO d'intérêt.....	147
3.1.3.2.	Validation de l'identification de l'abhexone dans les vins rouges.....	148
3.2.	<i>Etude de la distribution et de l'impact sensorielle de l'Abhexone</i> .....	149
3.2.1.	Développement et validation d'une méthode de dosage dans les vins rouges.....	149
3.2.2.	Etude de la distribution dans les vieux vins rouges.....	149
3.2.2.1.	Impact du type de vin et de l'obturateur.....	150
3.2.2.2.	Impact de la durée de conservation.....	151
3.2.3.	Mesure de l'impact sensoriel de l'abhexone dans les vins rouges.....	152
3.2.3.1.	Impact de l'augmentation des teneurs en abhexone sur la perception sensorielle des vins..	152
3.3.	<i>Etude des énantiomères de l'abhexone</i> .....	153
3.3.1.	Séparation des énantiomères par HPLC préparative.....	154
3.3.2.	Méthode de séparation et de quantification.....	155
3.3.3.	Evaluation des propriétés sensorielles de l'abhexone.....	156
3.3.4.	Détermination des énantiomères de l'abhexone dans les vins.....	156
3.3.4.1.	Discussion sur la détermination de configuration absolue des énantiomères de l'abhexone	156
3.3.5.	Distribution des énantiomères de l'abhexone dans les vins rouges.....	157
4.	CONCLUSION.....	159

**CHAPITRE 7. OPTIMISATION DE L'IDENTIFICATION DES THIOLS DANS LES VINS ROUGES PAR LA MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE DE REDUCTION (A.R.T.)..... 161**

1. INTRODUCTION .....	167
2. MATERIALS AND METHODS .....	168
2.1. Chemicals.....	168
2.2. Oak samples and wines .....	169
2.3. Protocol for oak-wood accelerated reductive treatment (A.R.T.).....	169
2.4. Identification of thiols in reduced oak wood samples .....	170
2.4.1. Gas chromatography coupled with pulsed flame photometric detector (GC-PFPD) and olfactometry (GC-O) .....	170
2.4.2. Capillary gas chromatography coupled with olfactometry and time of flight mass spectrometry (GC-O-TOF MS).....	171
2.4.3. Multi-Dimensional gas chromatography coupled with olfactometry and high-resolution mass spectrometry (MDGC-O-TOF MS) .....	171
2.5. Sensory analysis.....	172
2.6. Optimization of the reaction parameters by Box-Behnken design .....	172
2.7. Identification of thiols in red wine by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) .....	173
2.8. Data analysis .....	174
3. RESULTS AND DISCUSSION .....	174
3.1. Proof of concept of thiol formation from wood after accelerated reductive treatment (A.R.T.) .....	174
3.2. Optimization of reaction parameters. ....	175
3.2.1. Selection of reducing agent (S2), raw material, and extraction solvent (S0) .....	175
3.2.2. Application of a Box-Behnken design (BBD) to optimize step S1.....	176
3.3. Identification of 2-methoxybenzethiol .....	177
3.4. Characterisation of other odorant zones.....	179
3.5. Identification of oak-wood derived thiols in aged red wine .....	179
4. CONCLUSION .....	180
5. SUPPLEMENTARY DATA .....	186

**CHAPITRE 8. QUANTIFICATION DES THIOLS DERIVES DU BOIS DE CHENE (Q. PETRAEA) DANS LES VIEUX VINS ROUGES..... 195**

1. INTRODUCTION .....	197
2. MATERIELS ET METHODES .....	198
2.1. Réactifs et produits chimiques.....	198
2.2. Sélection des vins.....	199
2.2.1. Sélection de vieux millésimes pour l'étude de la distribution des composés.....	199
2.2.2. Sélection de vieux millésimes selon l'intensité du bouquet de vieillissement .....	199

2.2.2.1.	Sélection de vins jeunes permettant l'évaluation de l'impact de l'élevage sous bois de chêne 200	
2.2.2.2.	Sélection de vins vieux bouchés par différents types d'obturateurs .....	200
2.3.	<i>Quantification des composés soufrés</i> .....	201
2.3.1.	Méthode d'extraction et d'analyse des composés soufrés volatils .....	201
2.3.1.1.	Quantification des thiols volatils .....	201
2.3.1.2.	Méthode de quantification spécifique au 2,5-diméthyl-3-furanthiol .....	202
2.4.	<i>Validation de la méthode</i> .....	202
2.5.	<i>Quantification des composés d'arômes issus du bois de chêne</i> .....	202
2.6.	<i>Analyse sensorielle</i> .....	203
2.6.1.	Détermination des seuils de perception olfactifs .....	203
2.6.2.	Caractérisation sensorielle des profils d'un vin bouché avec différents obturateurs.....	203
2.7.	<i>Analyses microbiologiques</i> .....	203
2.8.	<i>Analyses statistiques</i> .....	204
3.	RESULTATS ET DISCUSSION .....	204
3.1.	<i>Identification du <math>\alpha</math>-méthyl-benzeneméthanthiol dans les vins rouges</i> .....	204
3.2.	<i>Développement d'une méthode de dosage</i> .....	205
3.3.	<i>Quantification des composés soufrés dans les vins rouges</i> .....	207
3.3.1.	Distribution dans les vins rouges de cabernet sauvignon conservés plusieurs années en bouteille	207
3.3.2.	Contribution de l'élevage sous bois de chêne à la présence de ces composés .....	212
3.3.2.1.	Impact de la présence de précurseurs cédés par le bois de chêne sur la formation des thiols au cours du vieillissement en bouteille .....	213
3.3.2.2.	Distribution des thiols volatils dans un vin en fin d'élevage conservé ou non au contact du bois 215	
3.4.	<i>Evaluation de l'impact sensoriel</i> .....	217
3.4.1.	Détermination des seuils de détection .....	217
3.4.2.	Caractérisation moléculaire des vins rouges développant un bouquet de vieillissement.....	218
3.5.	<i>Impact de l'OTR des obturateurs sur les teneurs en thiols volatils dérivés du bois de chêne</i>	220
3.5.1.	Impact du type d'obturateur et du type de vin .....	220
4.	CONCLUSION .....	222
	<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>223</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>231</b>
	<b>RESUME .....</b>	<b>265</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>266</b>



## Liste des abréviations

25DMFT	2,5-Diméthylfuran-3-thiol
26DMBT	2,6-Diméthylbenzenethiol
2M3F	2-Méthyl-3-furanthiol
2-MTP	2-Méthoxybenzenethiol - thiogaïacol
3-AFC	3-Alternative forced choice
3SH	3-Sulfanylhexanol
4MSP	4-Méthyl-4-sulfanylpentan-2-one
5MFFT	5-Méthyl-2-furanméthanethiol - 5-méthyl-furfurylthiol
A.R.T.	Accelerated reductive treatment
A3SH	Acétate de 3-sulfanylhexanol
ACP	Analyse en composante principale
AEDA	Aroma Extract dilution analysis
ANOVA	Analyse des variances
BBD	Box-benhken design
BM	Benzeneméthanethiol
BN	Barrique neuve
CA	Chemical analysis
CAR	Carboxen
CHARM	Combined hedonic aroma respond measurment
CV	Coefficient de variation
DMS	Sulfure de diméthyl
DTF	2-Méthyl-3-(méthyldithio)furan
DVB	Divinylbenzene
E2SP	Ethyl-2-mercaptopropionate
E3SP	Ethyl-3-mercaptopropionate
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
EI	Ionisation électronique
EtOH	Ethanol
eV	Electonvolt
FEMA	Flavor extract manufacturers association
FFT	2-Furanméthanethiol
GC	Chromatographie gazeuse
GC-O	Chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie
GSH	Glutathion
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
HS-SPME	Head-space solide phase micro-extraction
IBMP	2-Méthoxy-3-isobutylpyrazine
IPMP	2-Méthoxy-3-isopropylpyrazine
IRL	Indice de rétention linéaire
LLE	Extraction liquide liquide
LOD	Limite de détection
LOQ	Limite de quantification
MA	Microagglomerate
MND	3-Méthyl-2,4-nonanedione



MS	Spectrométrie de masse
NC	Natural cork
NIF	Nasal impact frequency
NPD	Détecteur azote phosphore
O	Olfactométrie
OAV	Odor activity value
OIR	Oxygen initial release
OIV	Organisation international de la vigne et du vin
OTR	Oxygen transfert rate
PDMS	Polydimethylsiloxane
PET	$\alpha$ -méthyl-benzeneméthanethiol - 1-Phénylethanethiol
PFPD	Pulse flame photometric detector
RH	Relative humidity
SAFE	Solvent-assisted flavor evaporation
s-BMP	2-Methoxy-3- <i>sec</i> butylpyrazine
SBSE	Stir bar sorptive extraction
SD	Standard deviation
SM	Solution modèle
SNIF	Surface of nasal impact frequency
Sp	Seuil de détection
SPE	Solid phase extraction
SPME	Solid phase micro-extraction
SRM	Selected reaction monitoring
TAV	Titre alcométrique volumique
TCA	2,4,6-Trichloroanisole
TDN	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene
THF	Tétrahydrofuran
TOF	Time of flight
TOS	Total oxygen supply
TPB	1-(2,3,6-Trimethylphenyl) buta-1,3-diene
TR	Temps de rétention
VSH	Vanillylthiol
WG	Wine globe
WL	Whiskey lactone
ZO	Zone odorante

# Liste des figures

<b>FIGURE 1.</b> CARTE DE LA REGION VITICOLE BORDELAISE (CIVB, 2020).....	8
<b>FIGURE 2.</b> DESCRIPTION SEMANTIQUE DU TERME « BOUQUET DE VIEILLISSEMENT » INSPIRE DES TRAVAUX DE PICARD <i>ET AL.</i> , (2015). .....	12
<b>FIGURE 3.</b> STRUCTURE CHIMIQUE ET SEUIL DE DETECTION DES PRINCIPAUX COMPOSES C13 NORISOPRENOÏDES. ....	15
<b>FIGURE 4.</b> STRUCTURE CHIMIQUE ET SEUIL DE DETECTION DES PRINCIPAUX COMPOSES TERPENIQUES. ....	16
<b>FIGURE 5.</b> STRUCTURE CHIMIQUE ET SEUILS DE DETECTION DES PRINCIPALES METHOXYPYRAZINES. ....	17
<b>FIGURE 6.</b> STRUCTURE CHIMIQUE DES PRINCIPALES FURANONES ET DES LACTONES. ....	18
<b>FIGURE 7.</b> STRUCTURE CHIMIQUE ET SEUILS DE DETECTION DES PRINCIPAUX COMPOSES DU BOIS. ....	20
<b>FIGURE 8.</b> STRUCTURE CHIMIQUE ET SEUIL DE DETECTION DES PRINCIPAUX DES COMPOSES SOUFRES. ....	23
<b>FIGURE 9.</b> MECANISMES REACTIONNELS DES COMPOSES SOUFRES AVEC DES ALCENES (A) ET AVEC DES COMPOSES PHENOLIQUES (B) AU COURS DE L'ÉVOLUTION DES VINS. ....	28
<b>FIGURE 10.</b> STRUCTURE MOLECULAIRE DES COMPOSES MAJORITAIRES LIES AUX PHENOMENES OXYDATIFS DES VINS. ....	31
<b>FIGURE 11.</b> DIFFERENTS TYPES D'OBTURATEURS PRESENTS SUR LE MARCHE DES VINS TRANQUILLES : CAPSULES A VIS (A), BOUCHONS SYNTHETIQUES (B), BOUCHONS LIEGE NATUREL (C), BOUCHONS LIEGE COLMATE (D), BOUCHONS LIEGE MICRO-AGGLOMERE (E). ....	35
<b>FIGURE 12.</b> CYCLE DE RECOLTE DU LIEGE POUR LA FABRICATION DE BOUCHONS EN LIEGE NATUREL ET TECHNIQUE. ....	36
<b>FIGURE 13.</b> DIFFERENTS POINTS D'APPORT DE L'OXYGENE PAR LE SYSTEME D'OBTURATION. ....	39
<b>FIGURE 14.</b> REPRESENTATION DU SYSTEME MOCON OX-TRAN 2/48 UTILISE POUR LA MESURE DE L'OTR DES OBTURATEURS PAR COULOMETRIE. ....	42
<b>FIGURE 15.</b> REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE BIDIMENSIONNELLE AVEC COUPE AU CŒUR INSPIRE DE FERNANDES <i>ET AL.</i> (2011). ....	64
<b>FIGURE 16.</b> A: PCA BIPLLOT (PC1 VS PC2) OF AROMA COMPOUND COMPOSITION AND SENSORY DESCRIPTOR INTENSITY OF 32 WINE SAMPLES FROM THE PESSAC LEOGNAN APPELLATION (2015). IN BLACK ANALYTICAL PARAMETERS, IN GREEN SENSORY DESCRIPTORS. B: SCORE PLOT (PC1 VS PC2). GROUP 1 (IN RED, N = 18) CORRESPONDS TO BOTTLES SEALED WITH NATURAL CORKS (NC). GROUP 2 (IN GREEN, N = 13) CORRESPONDS TO BOTTLES SEALED WITH MICROAGGLOMERATE CORKS (MA). THE 95 % CONFIDENCE ELLIPSES WERE PLOTTED FOR BOTH GROUPS. ....	90
<b>FIGURE 17.</b> DENDROGRAM OF SIMILARITIES APPLIED FOR THE 32 WINES OF THE PESSAC LEOGNAN APPELLATION. TWO GROUPS WERE IDENTIFIED: G1 (BLUE) ALL WITH MICROAGGLOMERATE CORKS AND SOME NATURAL CORKS AND G2 (RED) COMPOSED EXCLUSIVELY OF NATURAL CORKS. ....	93
<b>FIGURE 18.</b> ILLUSTRATION OF THE IMPACT OF SULFITE CONTENT AT BOTTLING ON THE OXIDATIVE EVOLUTION OF WINES AFTER 6 YEARS OF BOTTLE AGING. A: SCORE PLOT (PC1 VS PC2) OF FREE AND TOTAL SO <sub>2</sub> OF 28 WINE SAMPLES FROM THE PESSAC LEOGNAN APPELLATION (2015) AFTER BOTTLING ACCORDING TO STOPPER TYPE (MICROAGGLOMERATE CORKS, MA, IN GREEN AND NATURAL CORKS, NC, IN PURPLE) B: SAME SCORE PLOT WITH DIFFERENT COLOURS LINKED WITH COMPOSITION OF WINES AFTER 6 YEARS OF AGING AND CLUSTERING INTO TWO GROUPS ACCORDING TO FIGURE 17. G1 (OX, RED) WAS COMPOSED EXCLUSIVELY BY NC AND G2 (NON-OX, BLUE) WITH A MIX OF A FEW NC AND MA. ....	94

<b>FIGURE 19.</b> A: PCA BIPLLOT OF AROMA COMPOUND COMPOSITION AND OTR <sub>12y</sub> VALUES FOR A SAUVIGNON BLANC WINE SEALED WITH DIFFERENT STOPPERS. B: SCORE PLOTS OF PCA ON AROMA COMPOUND COMPOSITION. OTR <sub>12y</sub> ARE CONSIDERED AS SUPPLEMENTARY VARIABLES. C: CLUSTER DENDROGRAM OF OVERALL ANALYTICAL DATA SET OBTAINED FOR THE SAUVIGNON BLANC WINE FROM BORDEAUX SEALED WITH SEVEN DIFFERENT STOPPERS AFTER 12 YEARS OF BOTTLE AGING (WITHOUT NC 6). SAMPLE NAMES ARE INDICATED BY STOPPER ABBREVIATION FOLLOWED BY REPLICATE NUMBER. THREE GROUPS WERE IDENTIFIED: G1 (GREEN); G2 (BLUE) AND G3 (RED).....	98
<b>FIGURE 20.</b> DISTRIBUTION OF ANALYTICAL PARAMETERS ACCORDING TO CLUSTERING OF DATA IN THREE DIFFERENT GROUPS: G1 (OTR <sub>12y</sub> = 0.27 ± 0.27 N=12), G2 (OTR <sub>12y</sub> = 0.82 ± 0.76, N=12) AND G3 (OTR <sub>12y</sub> = 14.73 ± 20.29, N=8): A: OTR, B: DCO <sub>2</sub> , C: METHIONAL, D: PHENYLACETALDEHYDE, E: 3SH, F: 4MSP, G: FFT. DIFFERENT LETTERS CORRESPOND TO SIGNIFICANT DIFFERENT GROUPS (ANOVA, POST HOC TUKEY TEST). HORIZONTAL LINE CORRESPONDS TO MEDIAN VALUE OF DISTRIBUTION.....	101
<b>FIGURE 21.</b> PCA DIAGRAM OF FIRST TWO PRINCIPAL COMPONENTS OF ANALYTICAL PARAMETERS (BLACK): SENSORY EVALUATION (GREEN) AND OTR <sub>12y</sub> VALUES (SUPPLEMENTARY VARIABLE IN BLUE) OF A SAUVIGNON BLANC WINE SEALED WITH DIFFERENT STOPPERS. ....	104
<b>FIGURE 22.</b> PCA BIPLLOT OF OTR <sub>12y</sub> VALUES (SUPPLEMENTARY VARIABLE IN BLUE), AROMA COMPOUND COMPOSITION AND SENSORY DESCRIPTOR INTENSITY (GREEN EXCEPT PETROLEUM) OF A SAUVIGNON BLANC WINE SEALED WITH SEVEN DIFFERENT STOPPER TYPES. TDN AND PETROLEUM INTENSITY IN ORANGE. SCORE PLOTS OF PCA OF OTR VALUES, AROMA COMPOUND COMPOSITION AND SENSORY DESCRIPTOR INTENSITY WITH SAMPLES WITH SCREWCAPS IN ORANGE. ....	106
<b>FIGURE S 23.</b> PCA BIPLLOT OF FIRST TWO PRINCIPAL COMPONENTS OF SCORES OF JUDGES OBTAINED FOR TYPICITY (A), AGING BOUQUET (B) AND OXIDATION (C). ....	109
<b>FIGURE 24.</b> STRUCTURE CHIMIQUE (2E,4E,6Z)-NONATRIENAL (1) ET TRANS-4,5-EPOXY-(E)-2-DECENAL (2).....	118
<b>FIGURE 25.</b> DISTRIBUTION DU (2E,4E,6Z)-NONATRIENAL (NONA) ET DU TRANS-4,5-EPOXY-(E)-2-DECENAL (T-EPOXY) DANS LES TROIS VINS BLANCS DE SAUVIGNON DE BORDEAUX APRES 13 ANS DE CONSERVATION EN BOUTEILLE SELON LES DIFFERENTES MODALITES DE BOUCHAGE : 3 LIEGE MICROAGGLOMERE (DIAM A, B ET C) AVEC TROIS NIVEAUX D'OTR, UN BOUCHON SYNTHETIQUE (SYNT.1 OU SYNT.2) ET UN LIEGE NATUREL (LN). LES ECHANTILLONS SONT CLASSES SELON LE TYPE ET PAR VALEUR CROISSANTE DU NIVEAU D'OTR <sub>T0</sub> DE L'OBTURATEUR. BDX (A, D), PL1 (B, E) ; PL2 (C, F). ND : NON DETECTE. LES DIFFERENTES LETTRES CORRESPONDENT A DES DIFFERENCES SIGNIFICATIVES AU SEUIL DE P<0,01 (ANOVA, TEST POST HOC DUNN). ....	123
<b>FIGURE 26.</b> INCIDENCE DE L'AJOUT DE CONCENTRATIONS CROISSANTES EN (2E,4E,6Z)-NONATRIENAL (NG/L) A UN VIN BLANC DE SAUVIGNON NON OXYDE CONSERVE 13 ANS EN BOUTEILLE SUR L'INTENSITE DES DESCRIPTEURS SAUVIGNON (A), ABRICOT SEC (B) ET Poudre d'AMANDE FRAICHE (C). LES TRAITEMENTS STATISTIQUES ONT ETE CONDUITS SUR LES DONNEES CENTREES REDUITES. LES DIFFERENTES LETTRES CORRESPONDENT A DES DIFFERENCES AU SEUIL DE P<0,05. (N = 7).....	127
<b>FIGURE 27.</b> DISTANCE MOYENNE DES TROIS ECHANTILLONS SUR UNE ECHELLE DEFINIE PAR DEUX POLES CONTENANT NATURELLEMENT DES TENEURS DIFFERENTES EN CET ALDEHYDE (N) : LES MODALITES SYNT. 1 (POSITION 0, N-) ET DIAM A (POSITION 10, N+). LE VIN DE SAUVIGNON PL1 (MILLESIME 2007) CONTROL (SYNT.2) EST SUPPLEMENTE DE TENEURS CROISSANTES EN (2E,4E,6Z)-NONATRIENAL. LES TRAITEMENTS STATISTIQUES ONT ETE CONDUITS SUR LES DONNEES CENTREES REDUITES. LES DIFFERENTES LETTRES CORRESPONDENT A DES DIFFERENCES AU SEUIL DE P<0,05. (N = 7). ....	129
<b>FIGURE 28.</b> STRUCTURE CHIMIQUE DU SOTOLON ET DE L'ABHEXONE .....	147

<b>FIGURE 29.</b> EXEMPLE DE CHROMATOGRAMMES OBTENUS EN GC-MS/MS (SRM, $m/z$ 142→97) LORS DE L'ANALYSE DU VIN GV1 SEUL ET DOPE AVEC 4 $\mu\text{g/L}$ D'ABHEXONE (STANDARD COMMERCIAL).....	148
<b>FIGURE 30.</b> CONCENTRATIONS EN ABHEXONE DETERMINEES PAR GC-MS/MS (SRM, $m/z$ 142 → 97) DANS UN VIN ROUGE DU MILLESIME 2006 ET BOUCHES PAR DIFFERENTS TYPES D'OBTURATEUR (N = 2).....	150
<b>FIGURE 31.</b> QUANTIFICATION DE L'ABHEXONE PAR GC-MS/MS (SRM, $m/z$ 142→97) DANS LES VINS DE PAUILLAC (A), NAPA VALLEY (B) ET D'ITALIE (C) POUR LES MILLESIMES 2000-2016 (ND NON DETERMINE, N = 2).....	152
<b>FIGURE 32.</b> IMPACT DE L'AJOUT DE QUANTITES CROISSANTES DE L'ABHEXONE SUR LA PERCEPTION DES CARACTERES FRUITE (A), EPICE (B) ET CURRY (C) D'UN JEUNE VIN ROUGE (ANOVA, POST HOC TEST DE TUKEY SUR LES DONNEES CENTREES REDUITES, $P$ -VALUE < 0,05) (N = 7).....	153
<b>FIGURE 33.</b> ILLUSTRATION DE LA QUALITE DE RESOLUTION DES PICS CHROMATOGRAPHIQUES OBTENUS PAR LA SEPARATION DES ENANTIOMERES DE L'ABHEXONE COMMERCIAL RACEMIQUE SUR COLONNE CHIRALE PAR HPLC-UV (PIC 1 : 9.4 MIN, PIC 2 : 15,5 MIN ; COLONNE ANALYTIQUE CHIRALPAK® IH, DAD $\lambda$ = 240 NM). CHROMATOGRAMME DU PRODUIT COMMERCIAL (A), DU PIC 1 (B), DU PIC 2 (C) APRES COLLECTE DES PICS PAR HPLC PREPARATIVE. ....	154
<b>FIGURE 34.</b> SEPARATION DES ENANTIOMERES DE L'ABHEXONE SUR COLONNE CHIRALE (DIACETYL TERBUTYLSILYL-B-CYCLODEXTRINE) EN GC-MS/MS. (A) FORME RACEMIQUE COMMERCIALE (MODE SCAN), (B) ET (C) DANS UN VIN ROUGE AGE POUR CHACUN DES DEUX ENANTIOMERES (MODE SRM). ....	155
<b>FIGURE 35.</b> A: ORGANIC SYNTHESIS OF VANILLYLTHIOL FROM VANILLIN INCLUDING REACTION WITH NASH (S1) AND REDUCTION (S2) ACCORDING TO FLOCH <i>ET AL.</i> (2016). B: STRATEGY (STAGE 1) FOR SULFIDE REDUCTION EXPERIMENTS ON OAK-WOOD HYDROALCOHOLIC EXTRACTS (S0) FOLLOWED BY STEPS S1 AND S2.....	180
<b>FIGURE 36.</b> A: OVERLAY OF GC-O AND GC-PFPD DATA FROM OAK-WOOD ORGANIC EXTRACT ANALYSIS OBTAINED WITH REDUCTION PROTOCOL STAGE 3. ODORANT ZONES (OZ) REMINISCENT OF "MEATY" NOTES ARE COLOURED. 2D CHROMATOGRAM CORRESPONDING TO ANALYSIS OZ5 HEART-CUTTING MDGC-O-TOF MS IN SCAN MODE ( $m/z$ 45-250, B) AND WITH ION $m/z$ = 140.0308 (C). ANALYSIS OF 2-MTP SOLUTION (~MG/L, $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) ON MDGC-O-TOF MS METHOD IN SCAN MODE ( $m/z$ 45-250) (D). CO-INJECTION OF ORGANIC EXTRACT WITH PURE 2-MTP BY GC-PFPD ON BP 20 POLAR COLUMN (E).....	183
<b>FIGURE 37.</b> IDENTIFICATION OF 2-MTP (A), 2,5-DIMETHYL-3-FURANTHIOL (B), 5-METHYL-2-FURANMETHANTHIOL (C), 2-METHYLBENZENETHIOL (D), 2,6-DIMETHYLBENZENETHIOL (E) AND 2,6-DIMETHOXYBENZENETHIOL (F) IN A BORDEAUX RED WINE AGED WITH OAK WOOD (2008) CONTACT BY CO-INJECTION ON GAS CHROMATOGRAPHY (CARBO-WAX COLUMN) COUPLED WITH TANDEM MASS SPECTROMETER (GC-MS/MS). BLACK SOLID CHROMATOGRAMS CORRESPOND TO WINE SAMPLES; DASHES LINES CORRESPOND TO CO-INJECTIONS WITH THE PURE STANDARD COMPOUNDS. ....	184
<b>FIGURE S 38.</b> EXAMPLE OF CHROMATOGRAM OBTAINED FROM AN EXTRACT OF FUNCTIONALISED OAK WOOD (STEP S2) BY GC-PFPD ON A POLAR COLUMN WITH THE FOLLOWING PARAMETERS: "LIGHTLY TOASTED" OAK WOOD USING PROTOCOL 2. A. SELECTION OF CHROMATOGRAPHIC PEAKS FOR OPTIMISATION OF THE FUNCTIONALISATION EXPERIMENT: PEAK 1 (P1) AND PEAK 2 (FFT) (A). B. EXAMPLE OF FFT CO-INJECTION (DOTTED LINE). A: RUTHER AND BALTES. (1994) .....	186
<b>FIGURE S 39.</b> GC-PFPD ANALYSIS ON A NON-POLAR COLUMN OF FULL-FUNCTIONALIZED OAK WOOD EXTRACT "LIGHT TOASTING" OAK WOOD WITH PROTOCOL 2 (SOLID LINE). CO-INJECTION WITH PURE VANILLYLTHIOL (VSH) (DASH LINE). A: FLOCH <i>ET AL.</i> , (2016).....	187

<b>FIGURE S 40.</b> GC-PFPD AND GC-TOF MS CHROMATOGRAMS ( $m/z$ 45-250) (BP20 COLUMN) OF OAK WOOD ORGANIC EXTRACT BEFORE (A) AND AFTER SULFIDE REDUCTION (B. STAGE 3).....	189
<b>FIGURE S 41.</b> PFPD CHROMATOGRAMS OF ORGANIC EXTRACTS OBTAINED FROM OAK SAMPLES SUPPLEMENTED (G+) OR NOT (G-) WITH GUAIACOL ON POLAR COLUMN (BP20). BOTH NON-REDUCTIVE (G- H <sub>2</sub> S- RED-) AND REDUCTIVE (G- H <sub>2</sub> S+ RED+) WERE USED FOR THE NEGATIVE CONTROL (G-). .....	189
<b>FIGURE S 42.</b> IDENTIFICATION OF DIFFERENT SULFUR-CONTAINING COMPOUNDS RESPONSIBLE OF MEATY ODORS IN OAK WOOD ORGANIC EXTRACTS: 2-METHOXYBENZENETHIOL (A) 2.5-DIMETHYL-3-FURANTHIOL (B); 5-METHYL-2-FURANMETHANETHIOL (C); 2-METHYLBENZENETHIOL (D) AND 2.6-DIMETHYLBENZETHIOL (E), AND 2.6-DIMETHOXYBENZENETHIOL (F) BY GC-MS/MS. BLACK SOLID CHROMATOGRAMS CORRESPOND TO NON-SUPPLEMENTED OAK WOOD SAMPLES (H <sub>2</sub> S+. RED+). DASHES LINES CORRESPOND TO CO-INJECTIONS WITH THE PURE COMPOUNDS....	190
<b>FIGURE 43.</b> STRUCTURES CHIMIQUES DU 2-METHYL-[3-METHYLDITHIO]-FURANE (DTF), DU A-METHYL-BENZENEMETHANETHIOL (PET) ET DU BENZENEMETHANETHIOL (BM).....	198
<b>FIGURE 44.</b> ANALYSE PAR GC-MS/MS SUR COLONNES APOLAIRE BPX5 (A) ET POLAIRE DBWAX (B) D'UN EXTRAIT DE VIN ROUGE JEUNE DOPE (25 ET 100 NG/L) OU NON EN PET. ....	205
<b>FIGURE 45.</b> ACP DES DIFFERENTS THIOLS D'INTERET ET DE L'AGE DES VINS (VARIABLE SUPPLEMENTAIRE) POUR LES QUATRE CRUS ANALYSES (A). GRAPHIQUE DES SCORES REPARTISSANT LES DIFFERENTS ECHANTILLONS SELON L'AXE VERTICAL (B). EN BLEU, LES VINS DE CALIFORNIE NV1 ET NV2. EN ORANGE, LES VINS DE BORDEAUX (MG) ET DE TOSCANE (IT).....	210
<b>FIGURE 46.</b> BOX PLOT DES CONCENTRATIONS EN 3SH (A), FFT (B), 5MFFT (C), <i>o</i> -THIOCRE SOL (D), PET (E), 26DMBT (F), 2-MTP (G) ET THIOSYRINGOL (H) POUR LES VINS DE TOSCANE (IT, N = 17), DE MARGAUX (MG, N = 17), ET DE LA NAPA VALLEY (NV1, N = 16 ET NV2, N = 17). LES LETTRES DIFFERENTES CORRESPONDENT A DES DIFFERENCES SIGNIFICATIVES $p < 0,05$ (ANOVA SUIVI D'UN TEST <i>POST-HOC</i> DE TUKEY).....	212
<b>FIGURE 47.</b> TENEURS EN 2-MTP (A), 5MFFT (B), <i>o</i> -THIOCRE SOL (C) ET 26DMBT (D) RETROUVEES DANS UN VIN DE GRAVES BOUCHES PAR DES OBTURATEURS EN LIEGE MICROAGGLOMERE DIAM (A, B, C) ET SYNTHETIQUE (SYNT.) CLASSES SELON LEUR OTR <sub>T0</sub> CROISSANT (TABLEAU 37), ET UN BOUCHON EN LIEGE NATUREL (LN). LES ANALYSES ONT ETE REALISEES APRES 14 ANS DE CONSERVATION. ....	221

# Liste des tableaux

<b>TABLEAU 1.</b> EVOLUTION DES COMPOSES DU VIN AU COURS DE LA CONSERVATION EN BOUTEILLE.....	25
<b>TABLEAU 2.</b> CARACTERISTIQUES DES METHODES DE MESURE DE L'OXYGEN TRANSFERT RATE (OTR) DES BOUCHONS.....	43
<b>TABLEAU 3.</b> SYNTHÈSE DES DIFFÉRENTES ÉTUDES TRAITANT DE L'IMPACT DU SYSTÈME D'OBTURATION ET DE SA PERMEABILITÉ A L'OXYGÈNE SUR L'ÉVOLUTION DES VINS. ....	49
<b>TABLE 4.</b> TYPE AND CHARACTERISTICS OF STOPPERS SELECTED TO SEAL THE THREE SAUVIGNON BLANC WINES FROM GRAVES, PESSAC LEOGNAN AND BORDEAUX APPELLATIONS ACCOMPANIED BY THE NUMBER OF ANALYSES CARRIED OUT FOR OTR <sub>12y</sub> MEASUREMENTS, CHEMICAL ANALYSIS (CA) AND SENSORY ANALYSIS (SA) IN EXPERIMENT 2 (EXP. 2). ....	84
<b>TABLE 5.</b> DISTRIBUTION OF AROMA COMPOUNDS AFTER SIX YEARS OF BOTTLE AGING OF WHITE WINES FROM A SAME APPELLATION. ....	89
<b>TABLE 6.</b> CORRELATION COEFFICIENTS OBTAINED BY SPEARMAN TEST BETWEEN MOLECULAR MARKERS AND SENSORY CHARACTERS ANALYSED IN PESSAC LEOGNAN WINES. ....	91
<b>TABLE 7.</b> DESCRIPTIVE ANALYSIS AND DIFFERENCES BETWEEN DISTRIBUTION OF QUANTIFICATION AND SENSORY ANALYSIS RESULTS OF SAUVIGNON BLANC WINES SEALED WITH TWO TYPES OF STOPPERS: NATURAL CORKS (NC, N = 14) AND MICROAGGLOMERATE CORKS (MA, N = 18). ....	92
<b>TABLE 8.</b> EXAMPLES OF THE HIGHEST AND LOWEST CONCENTRATIONS OF FREE AND TOTAL SO <sub>2</sub> AT BOTTLING AND THE MEASUREMENT OF CHEMICAL MARKERS AND SENSORY EVALUATION OF WINES AFTER 6 YEARS OF AGING.....	94
<b>TABLE 9.</b> CHARACTERISTICS OF STOPPERS PROVIDED BY DIFFERENT MANUFACTURERS AND OTR OF DIFFERENT CLOSURES DETERMINED BY COULOMETRY AFTER 12 YEARS OF STORAGE (OTR <sub>12y</sub> ). ....	96
<b>TABLE 10.</b> CORRELATION COEFFICIENT OBTAINED BY SPEARMAN TEST BETWEEN MOLECULAR MARKERS AND OTR VALUES OF DIFFERENT STOPPER TYPES. ....	99
<b>TABLE 11.</b> CORRELATION COEFFICIENT OBTAINED BY SPEARMAN TEST BETWEEN MOLECULAR MARKERS AND OTR MEASUREMENT AND SENSORY CHARACTERS OF A SAUVIGNON BLANC WINE SEALED WITH DIFFERENT STOPPER TYPES. ....	103
<b>TABLE S 12.</b> OVERALL COMPOSITION OF THIRTY-TWO WHITE WINES FROM PESSAC LEOGNAN (2015) AT BOTTLING.....	109
<b>TABLE S 13.</b> SUMMARY OF ANALYSES CARRIED OUT IN STEPS 2 AND 3 ON A SAUVIGNON BLANC WINE (2007) SEALED WITH DIFFERENT STOPPERS AND TWO SERIES OF NATURAL CORK BATCHES (NC-S1 AND NC-S2). ....	110
<b>TABLE S 14.</b> ANALYTICAL PARAMETERS OF ALL SAMPLES ANALYSED IN THE EXPERIMENT 2, STEP 2 AND 3. ....	111
<b>TABLE S 15.</b> TRIANGULAR TEST TO DISCRIMINATE SARAN AND DIAM A STOPPERS. ....	112
<b>TABLE S 16.</b> TDN QUANTIFICATION AND PETROLEUM INTENSITY OF ALL WINE SAMPLES ANALYSED IN THIS EXPERIMENT (EXP.2, STEP 3). ....	112
<b>TABLEAU 17.</b> PRÉSENTATION DES ÉCHANTILLONS DE VIN ANALYSÉS APRÈS 13 ANS DE CONSERVATION EN BOUTEILLES ET BOUCHES SELON DIFFÉRENTS TYPES D'OBTURATEURS.....	119
<b>TABLEAU 18.</b> ÉVALUATION SENSORIELLE ET COMPOSITION DU VIN PL1 APRÈS 13 ANS DE CONSERVATION EN BOUTEILLE SELON DEUX TYPES D'OBTURATEUR.....	126
<b>TABLEAU 19.</b> IMPACT DE L'ADDITION DU (2E,4E,6Z)-NONATRIENAL SUR L'INTENSITÉ DES DESCRIPTEURS OLFACTIFS D'UN VIN BLANC DE SAUVIGNON CONSERVÉ 13 ANS EN BOUTEILLE.....	127

<b>TABLEAU 20.</b> GAMME DE CONCENTRATION ( $\mu\text{G/L}$ ) RETENUE POUR L'ÉVALUATION DES SEUILS DE DÉTECTION OLFACTIF DE L'ABHEXONE RACÉMIQUE ET DE CHACUN DES ENANTIOMÈRES. ....	142
<b>TABLEAU 21.</b> ÉVALUATION DE L'INTENSITÉ DES DESCRIPTEURS FRUITS FRAIS, VÉGÉTAL, OXYDE ET BOUQUET POUR LE VIN DE GRAVES DU MILLESIME 2006 CONSERVES SELON DEUX TYPES D'OBTURATEURS. ....	143
<b>TABLEAU 22.</b> DISTRIBUTION DES ZONES ODORANTES DÉTECTÉES PAR GC-O PERMETTANT DE DISCRIMINER LES TROIS MODALITÉS (V1, GV1, ET GV2) (N = 3). ....	144
<b>TABLEAU 23.</b> CARACTÉRISATION SENSORIELLE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS GÉNÉRÉES PAR HPLC DES EXTRAITS ORGANIQUES DES TROIS VINS ROUGES (V1, GV1 ET GV2) (N = 3). ....	146
<b>TABLEAU 24.</b> IDENTIFICATION DE LA ZONE ODORANTE ZO1 RAPPELANT LE CURRY DU SOTOLON. ....	147
<b>TABLEAU 25.</b> PARAMÈTRES ANALYTIQUES ET RÉSULTATS DE LA VALIDATION DE LA MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE L'ABHEXONE DANS LES VINS ROUGES PAR GC-MS/MS. ....	149
<b>TABLEAU 26.</b> SEUILS DE PERCEPTION ET DESCRIPTEURS OLFACTIFS DES ENANTIOMÈRES DE L'ABHEXONE DANS SOLUTION MODÈLE ET DANS UN VIN ROUGE. ....	156
<b>TABLEAU 27.</b> DISTRIBUTION DES ENANTIOMÈRES DE L'ABHEXONE ET DÉTERMINATION DE L'EXCÈS ENANTIOMÉRIQUE POUR UNE SÉRIE DE MILLESIMES CONSECUTIFS (2000 – 2016) D'UN CRU DE L'APPELLATION PAUILLAC (PA) ET DE LA NAPA VALLEY (NV, CALIFORNIE). ....	157
<b>TABLE 28.</b> IMPACT OF A.R.T. (BEFORE STEP S0 AND AFTER, STEP S2) OF "LIGHT TOASTING" OAK WOOD ON THE SENSORY DESCRIPTORS AND GC-PFPD SIGNALS. ....	181
<b>TABLE 29.</b> IMPACT OF TOASTING INTENSITY ON AROMA AND VOLATILE SULFUR COMPOUND COMPOSITION OF OAK-WOOD EXTRACTS BEFORE (STEP S0) AND AFTER REACTION (STEP S2). ....	181
<b>TABLE 30.</b> IDENTIFICATION OF "MEATY" ODORANT ZONES IN ORGANIC EXTRACT OF OAK-WOOD SAMPLES AFTER A.R.T. ....	182
<b>TABLE S 31.</b> EXPERIMENTAL DESIGN LEVELS OF THE SELECTED VARIABLES. ....	186
<b>TABLE S 32.</b> IMPACT OF REDUCTION AGENT ON THE AROMA DESCRIPTORS AND CHROMATOGRAPHIC PEAKS CHARACTERISTICS OBTAINED BY GC-PFPD OF OAK WOOD EXTRACTS. ....	187
<b>TABLE S 33.</b> IMPACT OF EXTRACTION SOLVENT ON THE AROMA DESCRIPTORS AND CHROMATOGRAPHIC PEAKS CHARACTERISTICS OBTAINED BY GC-PFPD OF OAK WOOD EXTRACTS. ....	187
<b>TABLE S 34.</b> EXPERIMENTAL DESIGN AND INTEGRATION RESULTS: (A1, A2, A3) FOR THE OPTIMIZATION OF THE REACTION BETWEEN H <sub>2</sub> S AND OAK WOOD EXTRACT (STEP S1). ....	188
<b>TABLE S 35.</b> EXPERIMENTAL DATA AND MS DETECTION PARAMETERS IN SRM MODE FOR SULFUR COMPOUNDS CORRESPONDED TO SIX OZ. ....	191
<b>TABLEAU 36.</b> PRÉSENTATION DES DIFFÉRENTS VINS ANALYSÉS. ....	200
<b>TABLEAU 37.</b> PRÉSENTATION DE LA SÉLECTION DES OBTURATEURS UTILISÉS POUR LA CONSERVATION D'UN VIN DE GRAVES (MILLESIME 2006). ....	201
<b>TABLEAU 38.</b> VALIDATION DE LA MÉTHODE DE QUANTIFICATION DES COMPOSÉS SOUFRES DANS UN VIN ROUGE. ....	206
<b>TABLEAU 39.</b> RÉSULTATS DU DOSAGE DES COMPOSÉS SOUFRES DANS DES VINS ROUGES DE LA NAPA VALLEY (NV1, NV2), D'ITALIE (TOSCANE, IT) ET DE BORDEAUX (APPELLATION MARGAUX, MG) SUR PLUSIEURS MILLESIMES CONSECUTIFS (2000-2016). ....	208

<b>TABLEAU 40.</b> CORRELATION DE SPEARMANN ESTIMEE ENTRE LES COMPOSES ET L'AGE DU VIN ASSOCIE A LA DUREE DE CONSERVATION EN BOUTEILLE. ....	211
<b>TABLEAU 41.</b> RESULTATS DU DOSAGE DES COMPOSES DU BOIS DANS LE VIN ROUGE DE LA NAPA VALLEY (NV1, NV2), SUR PLUSIEURS MILLESIMES CONSECUTIFS (2000 A 2016). ....	214
<b>TABLEAU 42.</b> EVALUATION DES NIVEAUX DE CORRELATION ENTRE LES TENEURS EN PRECURSEURS ET LEURS DERIVES SOUFRES DANS UN VIN ROUGE DE NAPA VALLEY (NV) PROVENANT DE L'ANALYSE DES MILLESIMES SUCCESSIFS COMPRIS ENTRE 2000 ET 2016 .....	215
<b>TABLEAU 43.</b> COMPARAISON DES TENEURS EN THIOLS DES VINS DE MERLOT ET CABERNET SAUVIGNON ELEVES (BN) EN EN BARRIQUE NEUVE OU EN CUVE DE VERRE (WG). ....	217
<b>TABLEAU 44.</b> DETERMINATION DES SEUILS DE DETECTION OLFRACTIVE (SD) ET DE LA VALEUR OAV DES COMPOSES. ....	218
<b>TABLEAU 45.</b> COMPARAISON DES TENEURS EN THIOLS DANS UN VIN MARQUE PAR DES NOTES EMPYREUMATIQUES (SJ) ET UN VIN MARQUE PAR DES NOTES VIANDEES (SE). ....	219





# Introduction générale

L'arôme du vin, de par sa diversité et sa complexité, rappelant à la fois un cépage et dans une certaine mesure un terroir, tient une place importante dans son appréciation (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017). L'arôme du vin jeune résulte de l'harmonie de composés volatils issus de la baie de raisin et produits au cours des différentes fermentations dont il est le siège durant son élaboration. Cette fraction volatile peut s'enrichir de composés issus du bois de chêne à la faveur d'un élevage en barrique raisonné et maîtrisé. Par conséquent, les tonalités aromatiques développées seront intimement liées au cru, à son encépagement, aux conditions climatiques du millésime et aux conditions de vinification.

Par exemple, selon le niveau de maturité des raisins, les tonalités aromatiques d'un vin de merlot s'étendent du poivron à la prune cuite en passant par des tonalités de fruits frais tels la fraise et la framboise (Van Leeuwen *et al.*, 2022) qui peuvent s'enrichir d'arômes boisés rappelant la noix de coco, la vanille et les épices, après un élevage sous bois de chêne.

Au cours du vieillissement en bouteille, ces tonalités aromatiques vont évoluer vers la truffe, le menthol, la torréfaction et plus généralement vers des notes empyreumatiques. Ainsi, ce nouvel équilibre olfactif amène le vin vers une complexité supérieure à celle qu'il possédait dans sa jeunesse : c'est ce que l'on appelle le bouquet de vieillissement.

Selon le dictionnaire de l'Académie Française, l'usage du terme « bouquet » distinguant le « parfum de certaines qualités de vin » remonte à la fin du 18<sup>e</sup> siècle (Académie Française, 1838), probablement par extension de son usage premier qui fait « référence à un ensemble de chose liées ensembles, qui tiennent naturellement l'une avec l'autre ». Dans son usage contemporain, il fait référence à la qualité aromatique des vieux vins, conservés plusieurs années en bouteille dont Emile Peynaud, (1980), grand œnologue bordelais, disait « l'évolution du vin vers le bouquet est un des phénomènes les plus impressionnants de l'œnologie et un des plus mal connu ». Il ajoutait que « la formation des bouquets est complexe et le passage de l'arôme du vin jeune au bouquet du vin vieux, quelle qu'en soit la nature, est fait de plusieurs phénomènes, successifs ou concomitants ». Ainsi, c'est un phénomène lent et progressif qui résulte de processus chimiques complexes le plus souvent réalisés à l'abri de l'oxygène ou tout au moins, dans l'état actuel de nos connaissances, dans les conditions d'oxygénation ménagée et maîtrisée (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017).

Pendant très longtemps la communauté scientifique, se basant sur les premiers travaux de Ribéreau-Gayon, (1933) et Peynaud (1974), a considéré que le bouchon était une barrière efficace à la fois pour les liquides et également les gaz. Pour autant, les observations répétées des praticiens, voyant leurs vins blancs évoluer précocement et aléatoirement d'une bouteille à l'autre ont pu trouver écho, au fil du temps, auprès d'équipes de recherche attentives aux problématiques du terrain.

Il fallut attendre le milieu des années 1990 pour que des chercheurs décident de s'emparer de la problématique de la qualité du vieillissement en bouteille en lien avec la qualité de l'obturateur par des approches et techniques analytiques modernes (Waters *et al.*, 1996). Les nombreuses études initiées, à la suite de ces travaux précurseurs, ont permis de montrer que le vieillissement du vin dépend de différents facteurs que l'on peut classer en facteurs intrinsèques tel que la qualité et la composition du vin (Lavigne *et al.*, 2008 ; Pons *et al.*, 2010) et de facteurs environnementaux auxquels ce dernier est soumis durant sa conservation, tels que les conditions de stockage (température, humidité relative, lumière...) (Boulton *et al.*, 1999 ; Silva Ferreira *et al.*, 2002) et bien sûr l'obturateur (Boulton *et al.*, 1999 ; Godden *et al.*, 2001 ; Waters *et al.*, 1996).

Les échanges gazeux entre la bouteille de vin et son environnement extérieur sont localisés au niveau du système d'obturation. On comprend ainsi que la maîtrise de ce système constitue une des clés permettant d'ajuster l'apport en oxygène et par conséquent de moduler l'évolution vin en bouteille. La caractéristique physique du système d'obturation permettant d'évaluer l'apport en oxygène au vin lors de sa conservation en bouteille est nommée Oxygen Transfert Rate (OTR). Elle est exprimée en milligramme d'oxygène par litre de vin et par an et concerne tous les types d'obturateurs : les capsules à vis, les bouchons synthétiques et les bouchons en de liège naturel, aggloméré et micro-aggloméré. L'entreprise DIAM Bouchage fabrique des bouchons en liège micro-aggloméré nettoyés au CO<sub>2</sub> supercritique présentant des perméabilités à l'oxygène différenciées. Depuis de nombreuses années elle travaille sur la maîtrise de l'OTR de ses bouchons afin d'améliorer la qualité de conservation des vins en bouteille.

Dans le cadre de ces travaux de recherche, la question posée est la suivante : quelle est la relation entre l'Oxygen Transfert Rate (OTR) des obturateurs et le développement d'un bouquet de vieillissement aromatique de qualité au cours de la conservation en bouteille ? Pour répondre à cela, après avoir fait état de l'art de la caractérisation de la perméabilité des obturateurs, des connaissances des différents marqueurs moléculaires de l'arôme des vins blancs et rouges, ainsi que les différentes méthodes analytiques permettant l'identification et la caractérisation de composés d'arômes, nous avons étudié l'impact de l'OTR des obturateurs mesurés après plusieurs années de conservation, sur l'évolution moléculaire et sensorielle des vins blancs de Bordeaux. Nous avons par la suite cherché à caractériser l'arôme des vins rouges en fonction de l'obturateur en appliquant deux stratégies analytiques différentes permettant d'aboutir à l'identification de composés d'arômes pour enfin caractériser l'impact de l'OTR des obturateurs sur l'évolution des vins rouges de Bordeaux.

---

## PARTIE I. Contexte bibliographique et expérimental

---



# Chapitre 1. Etude bibliographique de l'évolution aromatique des vins au cours de la conservation en bouteille



# 1. Les vins de Bordeaux : diversité aromatique et potentiel de garde

## 1.1. Contexte historique et terroir des vins de Bordeaux

La région bordelaise est une région mondialement reconnue pour ses exploitations viticoles. Elle regroupe environ 114 000 hectares dont 111 000 en Appellation d'Origine Contrôlée, ce qui en fait la région viticole la plus vaste de France (Chambre d'agriculture, 2022). Majoritairement productrice de vins rouges (+ 85 %), elle produit également des vins blancs secs (+ 10 %) et ~ 2 % de vins moelleux, liquoreux (CIVB, 2020).

Les vins de Bordeaux, sont des vins d'assemblage élaborés à partir de quelques cépages spécifiques (*V. vinifera*). S'agissant des raisins rouges, l'encépagement est majoritairement constitué de merlot (65 %), de cabernet sauvignon (23 %), de cabernet franc (10 %) tandis que les autres cépages tels que le petit verdot, le carménère ou encore le malbec restent minoritaires (2 %). Concernant les raisins blancs, le sémillon (47 %) et le sauvignon blanc (45 %) sont largement cultivés à Bordeaux. Les cépages complémentaires sont la muscadelle (6 %) et quelques cépages minoritaires (moins de 2 % de la surface plantée en variétés blanches) tel le sauvignon gris par exemple.

Le vignoble bordelais se divise en plusieurs zones géographiques structurées selon leur position par rapport à l'embouchure de la Garonne et de la Gironde (Figure 1). La première, dite « rive gauche » et située au nord-ouest de la région renferme majoritairement des sols graveleux. A l'est de la Gironde, au nord de la Dordogne se trouve la zone de la « rive droite » constituée d'un plateau calcaire. Enfin, entre la Dordogne et la Garonne se trouve sur un terrain vallonné appelé « l'entre-deux-mers ». C'est au sein de ces différentes zones géographiques que se répartissent les 65 Appellations d'Origine Contrôlée du vignoble de Bordeaux. Chacune d'entre elles dispose d'un cahier des charges spécifique régissant un encépagement, des pratiques culturales, le type et la durée d'élevage, la densité de plantation minimale, ou encore le rendement de production maximal.

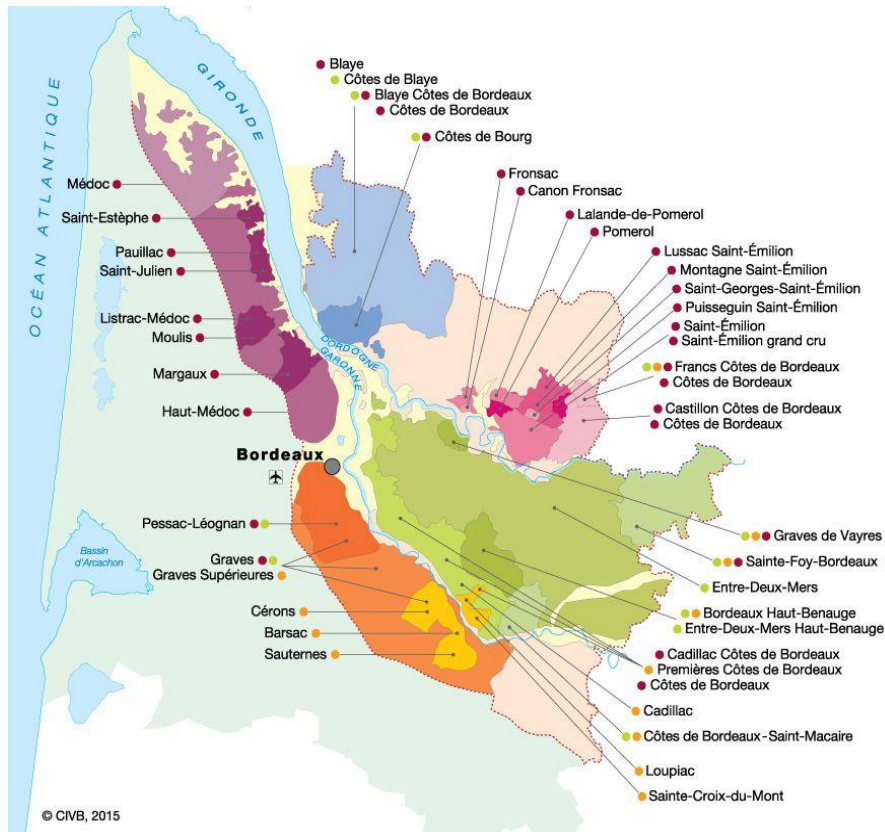
### *Exemple de l'appellation Pessac Léognan*

L'appellation Pessac Léognan, reconnue par le décret du 9 septembre 1987, se situe à proximité de l'agglomération bordelaise. Elle est située dans la région des Graves et regroupe dix communes dont Pessac et Léognan mais également Villenave d'Ornon, Talence ou encore Cadaujac.

Elle comprend une centaine de domaines répartis sur 1600 hectares, parmi lesquels seize sont classés au classement des grands crus des Graves (datant de 1959). L'ensemble des étapes de production, de la vigne au conditionnement, doivent être réalisées au sein de cette limite territoriale. Selon le cahier



des charges de l'appellation, les exploitations doivent posséder un vignoble dont la densité minimale de plantation est fixée à 6 500 pieds par hectare avec un écartement des rangs inférieur à 1,60 m. Les vins finis doivent avoir un titre alcoométrique volumique supérieur à 11 % vol., des teneurs en acide malique inférieure ou égale à 0,30 g/L, ainsi que des teneurs en sucres fermentescibles inférieures à 4 g/L pour les vins blancs et 2 g/L pour les vins rouges au moment de la mise en bouteille. L'étape d'élevage, généralement réalisée en barrique de chêne, se déroule au moins jusqu'au 15 septembre pour les vins rouges et au 15 mars pour les vins blancs de l'année suivant la récolte.



**Figure 1.** Carte de la région viticole bordelaise (CIVB, 2020).

## 1.2. Notion de typicité aromatique des vins de Bordeaux

La typicité des vins, au même titre que la notion de qualité, est un concept difficile à expliquer. Elle est basée sur l'analyse d'un profil sensoriel, préalablement défini comme représentatif d'une classe, d'une catégorie en lien avec un terroir et des pratiques spécifiques (Basalekou *et al.*, 2023 ; Souza Gonzaga *et al.*, 2021). Elle représente donc la capacité d'un produit, un vin, à répondre aux attentes sensorielles de sa catégorie. La typicité d'un vin peut donc être associée à une origine géographique (Cadot *et al.*, 2012 ; Parr *et al.*, 2010), un cépage (Cadot *et al.*, 2012) ou encore une technique d'élaboration (Cadot *et al.*, 2010). La compréhension et la représentation de la typicité sont

intimement liées à la représentation d'un terroir (Bessis *et al.*, 1994). D'après la définition de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV), le terroir est « un concept qui se réfère à une zone dans laquelle se développe une connaissance collective des interactions entre les pratiques physiques et biologiques identifiables, fournissant des caractéristiques distinctives pour les produits originaires de cette zone ».

La typicité des vins de Bordeaux est donc portée en premier lieu par (i) les cépages qui y sont cultivés et façonnée (ii) par le climat de la région (Maltman, 2008) au même titre (iii) qu'un ensemble de pratiques culturelles et œnologiques (Drappier *et al.*, 2019; Van Leeuwen *et al.*, 2023). En effet, les grands vins rouges et blancs de Bordeaux sont des vins pour lesquels des pratiques telles que l'utilisation du bois de chêne, par exemple, contribuent à enrichir leur palette aromatique. En ce sens, la pratique de l'assemblage, c'est-à-dire l'association équilibrée de différents lots élaborés à partir de plusieurs cépages issus de terroirs spécifiques, est une spécificité de l'élaboration des grands vins, qu'ils soient de Bordeaux ou d'ailleurs. Cette approche permet au vinificateur d'apporter de la complexité au produit en lien avec une qualité et une finesse (Reveillon, 2014).

L'arôme des vins rouges de Bordeaux est communément décrit par des notes de fruits rouges et noirs associées à l'expression subtile de la violette, de la réglisse ou encore d'épices, et de sous-bois (Picard *et al.*, 2015 ; Van Leeuwen *et al.*, 2020). Chacun des cépages utilisés va apporter au vin jeune des notes aromatiques qui lui sont propres et au vin vieux une large palette aromatique. A titre d'exemple, les vins de merlot sont appréciés et connus pour les arômes de fruits rouges qu'ils révèlent dans leur jeunesse ainsi que les notes grillées qu'ils développent au cours de leur conservation en bouteille. Les vins de cabernet sauvignon sont plutôt décrits comme ayant des notes de fruits noirs (cassis, mûre), de réglisse tout en développant des notes de sous-bois en vieillissant. Pour les vins blancs, le semillon apporte des notes d'abricot et de miel, tandis que le sauvignon blanc est connu pour ses arômes rappelant les agrumes et de buis. Pour les meilleurs d'entre eux, d'autres tonalités aromatiques viendront enrichir la palette aromatique du vin vieilli en bouteille, à la faveur d'une évolution qualitative.

La typicité est aujourd'hui un paramètre de valorisation des vins, au même titre que son aptitude au vieillissement. Selon Dubourdieu *et al.*, (2012), celle-ci est empiriquement liée à la capacité du vin à résister à l'oxydation ainsi que sa capacité à vieillir en bouteille tout en conservant sa fraîcheur et en développant son originalité de manière harmonieuse.

### 1.3.Expression et composante aromatique du vieillissement des vins

A ce jour, plus de 1000 composés volatils ont été reportés dans les vins (Rapp 1988). Ils appartiennent à des familles chimiques très variées telles que les phénols, les aldéhydes, les esters, les thiols, les pyrazines ou encore les alcools... rendant compte de la diversité des mécanismes chimiques et biochimiques à l'origine de leur formation. Certains sont formés dans la baie de raisin et cédés au vin, d'autres sont produits sous l'action du métabolisme secondaire des levures et des bactéries. Bien entendu, l'élevage sous-bois de chêne (*Q. petraea*) peut contribuer de façon significative à la composition du vin. Finalement, ces composés présents dans le vin jeune peuvent évoluer de manière plus ou moins importante selon la température et la quantité d'oxygène dissous au cours d'un long vieillissement en bouteille.

Ainsi, compte tenu de la complexité des phénomènes mis en jeu, la recherche en œnologie s'est attachée depuis plus de 40 ans à identifier ces composés odorants pour affiner notre connaissance des déterminants moléculaires de la qualité des vins, qu'ils soient jeunes ou âgés.

#### 1.3.1. Notion de composé d'arôme et de composé d'impact

Un arôme est « un principe odorant qui émane de certaines substances » (Dictionnaire Le Robert). C'est un composé chimique volatil capable de stimuler notre système olfactif et d'entraîner une perception au niveau de l'épithélium olfactif. Parmi l'ensemble des composés volatils présents dans le vin, la majorité d'entre eux, du fait de leur structure chimique (taille, volatilité, présence d'hétéroatomes, d'insaturations), n'ont pas la même capacité à contribuer à l'arôme du vin.

En chimie des arômes, la notion d'impact aromatique est intimement liée au seuil de perception, appelé également seuil de détection ( $S_p$ ) d'un composé. Ce dernier est défini comme « la concentration minimale à partir de laquelle, au cours d'un test triangulaire, 50 % des dégustateurs reconnaissent la présence d'une substance odorante, sans pour autant être forcément capable de l'identifier (Ebeler & Thorngate, 2009 ; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017). En œnologie, il est également instructif de s'intéresser aux seuils de reconnaissance et de rejet d'un composé. Le premier correspond à la plus petite concentration permettant au stimulus d'être reconnu et identifié et enfin le seuil de rejet définit comme la concentration minimale pour laquelle l'intensité de l'arôme perçu est non acceptable (Tarasov *et al.*, 2020). Il est aussi assimilé au seuil de préférence, « concentration maximale, au-delà de laquelle l'odeur d'un composé est jugée négativement » (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017). D'un point de vue expérimental, la détermination d'un seuil amène l'analyste à qualifier un composé comme impactant dès lors que sa concentration dépasse ce seuil.

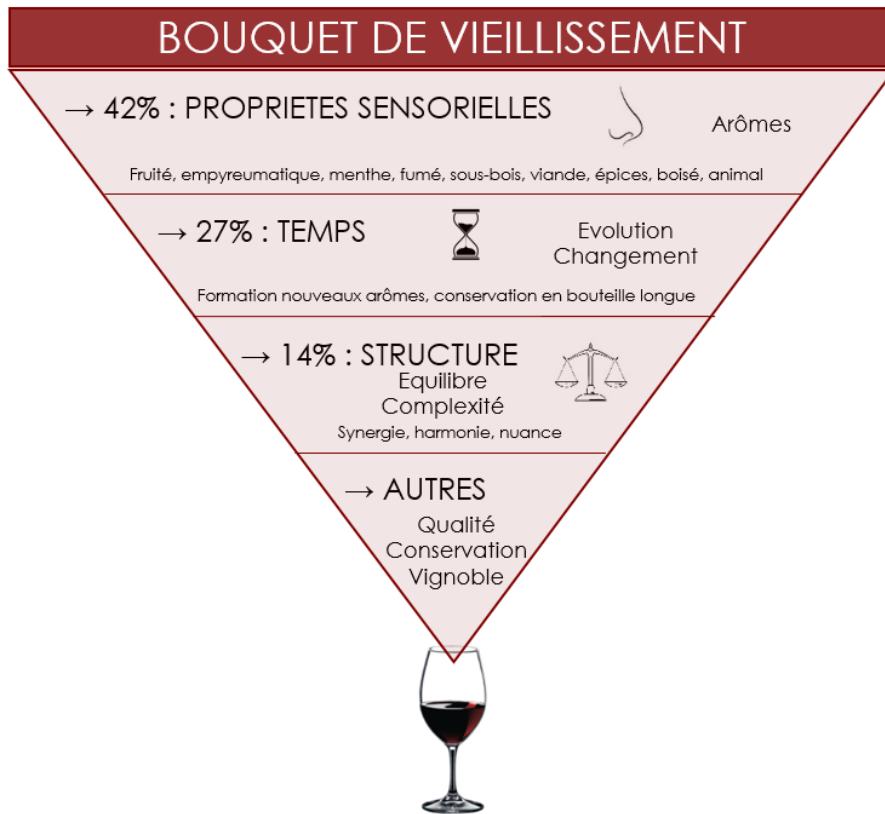
Bien entendu, les travaux de psychologie cognitive modulent cette règle générale dès lors que des phénomènes d'interactions perceptives rentrent en jeu. Ces derniers vont permettre d'expliquer les phénomènes de synergie, d'antagonisme, d'additivité et de masquage (Lytra *et al.*, 2012, Rapp and Mandery, 1986). Par ailleurs, la fraction non volatile du vin ou matrice, peut également jouer un rôle sur la perception des composés odorants (Escudero *et al.*, 2007; Lorrain *et al.*, 2013; Robinson *et al.*, 2009). C'est pour cette raison qu'au-delà de la connaissance des seuils de détection en solution modèle, leur détermination dans le vin sont indispensables et permettent de valider la contribution d'un composé à une tonalité aromatique donnée. Au regard de la littérature, les concentrations des composés d'impact sont comprises entre  $10^{-1}$  et  $10^{-12}$  g/L (Ebeler & Thorngate, 2009).

### 1.3.2. Le bouquet de vieillissement : un concept sensoriel complexe

Pour les plus grands vins, le vieillissement en bouteille est lent et continue de quelques années à plusieurs dizaines d'années. Dans ces conditions, le vin en bouteille peut être le siège de mécanismes chimiques modulant favorablement l'équilibre de ses arômes vers le développement d'un bouquet.

Ce dernier est un concept œnologique sensoriel complexe. Selon un sondage effectué auprès 144 professionnels par Picard *et al.*, (2015), il se définit en premier lieu par l'expression de propriétés sensorielles singulières en lien avec la notion de temps et indirectement de vieillissement (Figure 2). En d'autres termes, le bouquet se définit comme une évolution qualitative de l'arôme du vin vieux. Ainsi, dans le langage commun, un vin développe un bouquet de vieillissement synonyme d'originalité alors qu'à l'inverse il sera marqué par des arômes oxydatifs banalisants. En troisième position on retrouve les qualités gustatives telles que l'équilibre et la complexité.

Les tonalités aromatiques les plus fréquemment associées à cette notion de bouquet des grands vins rouges de Bordeaux (Figure 2), rappellent un mélange complexe de tonalités de type empyreumatiques, grillées, mentholées, torrifiées, boisées ou encore de truffe. Selon Peynaud, (1980), les grands vins rouges de Bordeaux révèlent un équilibre aromatique associant à la fois l'expression variétale des cépages majoritaires (cabernet sauvignon et merlot) rappelant le cassis, la cerise, la violette et celles retrouvées lors d'un long vieillissement évoquant des notes empyreumatiques, de grillé, de réglisse, de viande cuite.



**Figure 2.** Description sémantique du terme « bouquet de vieillissement » inspirée des travaux de Picard *et al.*, (2015).

S'agissant des vins blancs, l'apparition d'un bouquet se traduit par la présence de tonalités empyreumatiques en lien avec la torréfaction, dont les nuances restent proches de celles apportées par l'élevage, et également de tonalités évoquant la menthe fraîche. Pour les meilleurs vins de sauvignon, le bouquet inclut également une composante variétale qui a pu être préservée au cours du vieillissement en bouteille. En cela, le développement d'un bouquet est synonyme d'une évolution vers une complexité aromatique supérieure à celle dont bénéficiait le vin jeune.

Au regard de la littérature, les mécanismes associés à cette profonde modification de l'arôme des vins sont très probablement de nature chimique, au même titre que leur évolution oxydative, c'est à dire en l'absence de microorganismes. Il est à noter que ces hypothèses ont été validées pour la conservation des vins blancs en bouteille (Pons, 2006) mais restent peu documentées pour les vins rouges (Millet, 2001).

## 2. Caractérisation moléculaire de l'arôme des vins au cours de leur conservation en bouteille

L'ensemble de ces composés d'arômes, qu'ils soient retrouvés dans le vin jeune ou après plusieurs années de conservation en bouteille, appartiennent à différentes familles chimiques. Ils contribuent seuls ou en mélange à la formation de certaines tonalités aromatiques, spécifiques d'un cépage, d'un mode d'élaboration. Certains d'entre eux peuvent contribuer à la formation d'un bouquet de vieillissement en lien avec une évolution qualitative et originale de son arôme. A l'inverse, selon la composition initiale du vin et les conditions de conservation, il peut être le siège d'une évolution banalisante de ses arômes en lien avec une évolution oxydative.

Les composés volatils contribuant à l'arôme du vin jeune sont nombreux, leur distribution et assez bien documentée dans la littérature. Dans cette partie, nous proposons de décrire les composés odorants qui vont particulièrement contribuer, ou tout au moins permettre d'expliquer l'équilibre aromatique et la présence de certaines tonalités retrouvées dans les vins rouges et les vins blancs conservés plusieurs années en bouteille.

### 2.1. Les C13-norisoprénoïdes

Lors des opérations préfermentaires et fermentaires, le raisin va céder au vin, de nombreux composés de type C<sub>13</sub>-norisoprénoïdes (Figure 3) parmi lesquels : la  $\beta$ -damascénone, rappelant la compote de pomme ou les fruits tropicaux, ainsi que la  $\beta$ -ionone rappelant des notes de violette (Winterhalter *et al.*, 1990). Ces composés contribuent généralement à l'arôme des vins rouges jeunes. Le 1-(2,3,6-triméthylphényl) buta-1,3-diene (TPB) à odeur de géranium peut également être retrouvé dans des vins de Sémillon. Ces teneurs augmentent généralement au cours de la conservation (Slaghenaufi & Ugliano, 2018).

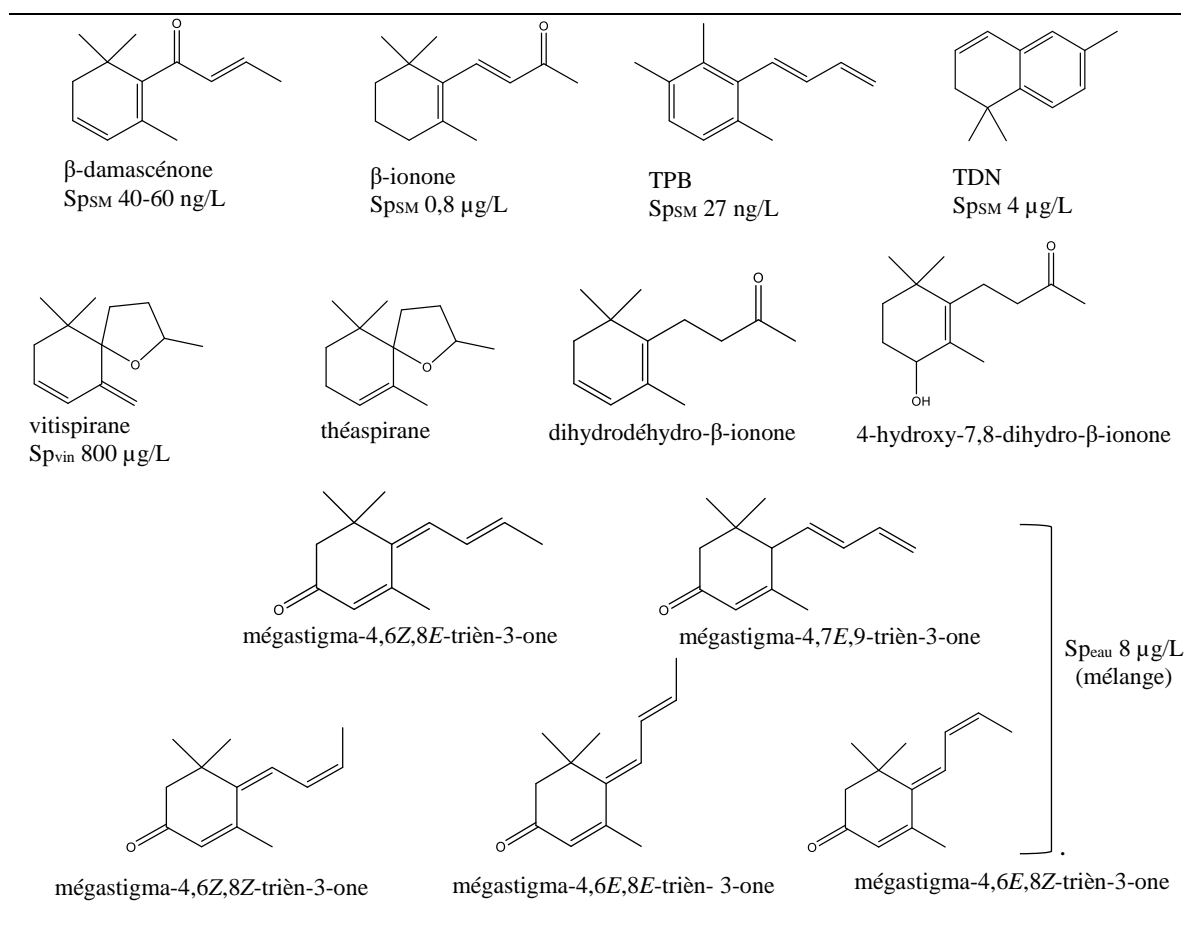
Le 1,1,6-Triméthyl-1,2-dihydronaphthalène (TDN), évoquant de notes de pétrole et de kérosène, est un composé très odorant associé à la typicité des vieux vins de riesling. Les concentrations retrouvées sont comprises entre 1 et 50  $\mu\text{g/L}$  et peuvent atteindre 250  $\mu\text{g/L}$  dans certains rieslings australiens, soit plus de 100 fois supérieures à son seuil de détection ( $S_{\text{PSM}} 4 \mu\text{g/L}$  en solution modèle) et nettement supérieures au seuil de rejet (82  $\mu\text{g/L}$ ) au-delà duquel sa contribution à la complexité du vin est remplacé par la dépréciation du vin exprimant ce caractère banalisant (Tarasov *et al.*, 2020).

Les rieslings contiennent également le 2,10,10-triméthyl-6-méthylène-1-oxa-spiro[4.5]dec-7-ène (vitispirane) de manière plus importante que d'autres cépages tels que le chardonnay, le sauvignon blanc, le cabernet sauvignon et le pinot noir (Eggers *et al.*, 2006). Ce composé identifié dans le jus de raisin, des vins de tables et des vins fortifiés (Simpson *et al.*, 1977) voit ses concentrations augmenter durant le vieillissement en bouteille (Simpson, 1983) et atteindre des valeurs supérieures au seuil de perception déterminé dans les vins à 800 µg/L (Genovese *et al.*, 2007; Vinholes *et al.*, 2009). Composée de deux carbones chiraux, la vitispirane présente deux paires de diastéréoisomères dont l'odeur est différente. La paire cis (2*R*,5*R*) et (2*S*,5*S*) révèle des notes fraîches de chrysanthème et est plus intense que la paire trans (2*S*,5*R*) et (2*R*,5*S*) rappelant les fleurs exotiques et des notes terreuses et boisées (Schulte-Elte *et al.*, 1978).

Il en est de même pour la 2,6,10,10-tétraméthyl-1-oxa-spiro[4,5]-déca-6-ène (théaspirane), un composé dérivé des C<sub>13</sub> norisoprénoides trouvé dans le thé (Renold *et al.*, 1974), ou dans certains fruits tels que le raisin (Schreier *et al.*, 1976) ainsi que dans le vin (Bailly *et al.*, 2009; Vilanova *et al.*, 2007). Il présente 4 isomères : les énantiomères (2*R*, 5*R*) et (2*S*, 5*S*), connus sous le nom d'aspirane A (camphre), et (2*S*, 5*R*, naphtalène) et (2*R*, 5*S*, cassis), connus sous le nom d'aspirane B (Schmidt *et al.*, 1992; Winterhalter, 1996). L'oxydation de ce composé entraîne la libération de deux dérivés identifiés dans les vins de Sauternes et les vins jaunes du Jura : la dihydrodéhydro-β-ionone ainsi que son produit d'hydrolyse 4-hydroxy-7,8-dihydro-β-ionone à l'odeur de grenadine (Collin *et al.*, 2012).

L'augmentation de la teneur en C<sub>13</sub>-norisoprénoides au cours de la conservation en bouteille est en lien avec la présence de formes précurseurs non odorantes de type glycosidique (Moio *et al.*, 2004 ; Ugliano, 2013 ; Ugliano *et al.*, 2008). Les formes odorantes seront libérées par hydrolyse chimique d'autant plus rapidement que le pH du vin est bas (Sefton *et al.*, 1993; Skouroumounis *et al.*, 1992; Winterhalter *et al.*, 1990).

Les caroténoïdes et la lutéine provenant du raisin ou du bois, libèrent au cours du vieillissement des composés contribuant aux tonalités de tabac dans les vieux vins (Nonier *et al.*, 2004; Slaghenaufi *et al.*, 2014). Ce sont les tabanones (mégastigma-4,6*Z*,8*E*-trièn-3-one, mégastigma-4,7*E*,9-trièn-3-one, mégastigma-4,6*Z*,8*Z*-trièn-3-one, mégastigma-4,6*E*,8*E*-trièn-3-one, et mégastigma-4,6*E*,8*Z*-trièn-3-one) dont les quatre premiers isomères ont une origine variétale tandis que le dernier provient du bois de chêne (Slaghenaufi *et al.*, 2014, 2016). Le mélange des cinq isomères présente un seuil de détection déterminé dans l'eau à 8 µg/L (Slaghenaufi *et al.*, 2016).



**Figure 3.** Structure chimique et seuil de détection des principaux composés C13 norisoprénoïdes.

## 2.2. Les terpènes

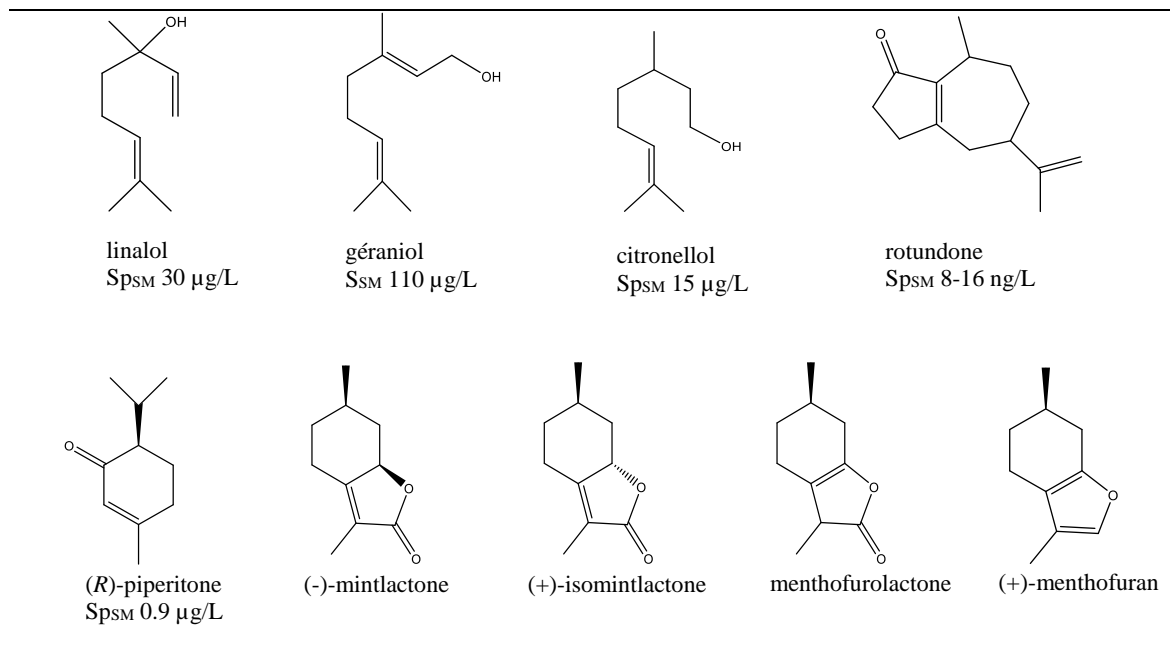
Le raisin peut libérer dans le vin des composés terpéniques responsables des notes florales, de pétales de roses souvent associées aux cépages muscatés (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017). Ces composés sont libérés à partir de précurseurs glycosylés dont les seuils de détection olfactive sont compris entre 10 et 100  $\mu$ g/L (Mateo & Jiménez, 2000). Dans les vins, on retrouve près de 50 monoterpènes dont les alcools monoterpéniques qui restent majoritaires tels que : le linalol, le géraniol, le nérol, le citronellol et l' $\alpha$ -terpinéol (Figure 4). Ils peuvent être libérés dans le vin et au cours de la conservation par hydrolyse acide (Mateo & Jiménez, 2000). Toutefois, certains d'entre eux tels le linalol et le géraniol peuvent subir des réactions de déshydratations pouvant entraîner leur dégradation limitant ainsi leur contribution à l'arôme des vieux vins (Ferreira *et al.*, 1997 ; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017).

D'autres terpènes plus complexes tels que la rotundone, un sesquiterpène cyclique en C15 issu du métabolisme secondaire des baies, participe aux notes poivrées de certains vins rouges (Siebert *et al.*, 2008). Identifiée à la fin des années 2000 dans des vins de syrah australiens (Wood *et al.*, 2008), ce composé ubiquiste est retrouvé dans de nombreux cépages blancs et rouges tels que le pinot noir,



le durif, le graciano, le riesling (Zhang *et al.*, 2016), le duras (Geffroy *et al.*, 2014), le gamay (Geffroy *et al.*, 2016), le malbec et l'abouriou (Culleré *et al.*, 2016). Selon le type de vin, ses concentrations sont comprises entre 50 et 600 ng/L. Les travaux menés sur la caractérisation de ses propriétés sensorielles ont permis d'évaluer l'intensité de son odeur (seuil compris entre 8 et 16 ng/L) tout en révélant la forte variabilité interindividuelle associée à la perception de la rotundone : 31 % de la population ne détecte pas sa présence à 200 ng/L (Geffroy *et al.*, 2018 ; Gaby *et al.*, 2020).

Certains composés retrouvés dans les vins rouges conservés plusieurs années en bouteille sont issus de transformations secondaires du limonène (terpène) en lien indirect avec à la perception des tonalités menthées (Mahmoud & Croteau, 2003; Picard *et al.*, 2016). Par exemple, la pipéritone dont l'odeur rappelle la menthe poivrée est retrouvée en concentrations plus importantes dans les vins rouges développant un bouquet, bien qu'elles restent à des niveaux infraliminaires ( $C_{\max}$  : 0,435  $\mu\text{g/L}$  ;  $S_{\text{psm}}$  0,9  $\mu\text{g/L}$ ). Par conséquent, ce composé ne contribue pas directement à l'arôme des vins rouges (Pons *et al.*, 2016). Cependant, d'autres dérivés des monoterpènes identifiés dans les huiles essentielles de menthe poivrée, (Frérot *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 1980) contribueraient, selon les travaux de Picard *et al.* (2017), aux tonalités mentholées des vins rouges. Ces composés appartiennent à la famille des *p*-menthanes lactones : (-)-mintlactone, (+)-isomintlactone, menthofurolactone et le (+)-menthofuran.

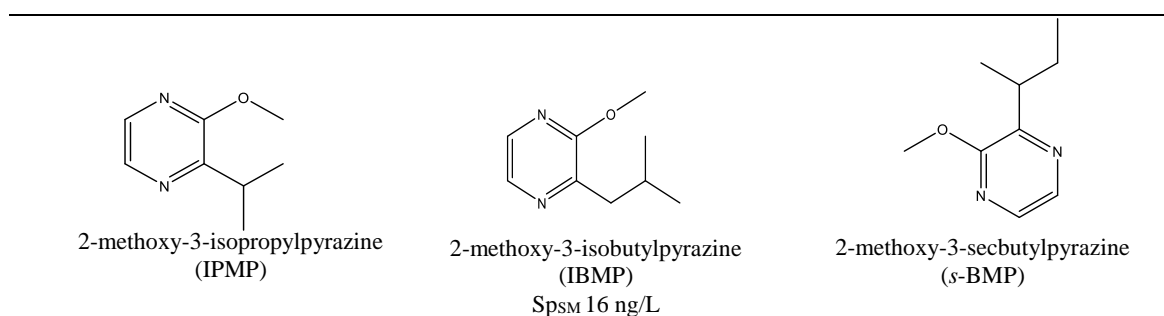


**Figure 4.** Structure chimique et seuil de détection des principaux composés terpéniques.

### 2.3. Les méthoxypyrazines

Les méthoxypyrazines (Figure 5), sont des hétérocycles azotés retrouvés en quantités variables à la fois dans les raisins et les vins. Les plus importantes d'un point de vue sensoriel sont la 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP), la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP) et la 2-méthoxy-3-secbutylpyrazine (*s*-BMP). Elles sont très odorantes et présentent des seuils de détection proches du ng/L (Roujou de Boubée *et al.*, 2000). L'IBMP rappelle le poivron vert, l'IPMP évoque des odeurs à la fois terreuses et de petit pois et la *s*-BMP rappelle à la fois le petit pois et le poivron vert. Depuis le milieu des années 90, la contribution de l'IBMP à l'arôme de poivron vert des vins de cabernet-sauvignon, carménère ou encore sauvignon blanc est largement démontrée (Allen *et al.*, 1994 ; Lacey *et al.*, 1991). Selon Roujou de Boubée *et al.*, (2000), ses concentrations peuvent atteindre plus de 70 ng/L selon le niveau de maturité des raisins le jour de leur cueillette, dépassant ainsi son seuil de détection (16 ng/L). Selon ces mêmes auteurs, la *s*-BMP est rarement détectée dans les vins alors que l'IPMP se retrouve souvent sous son seuil de détection. Récemment, des concentrations importantes en IBMP ont été retrouvées dans les vins rouges de cabernet sauvignon élaborés à partir de raisins infectés par *Plasmora viticola* (Pons *et al.*, 2018).

Selon les travaux de Blake *et al.* (2009, 2010) réalisés sur des vins de riesling et de cabernet franc l'IBMP diminue d'au moins 30 % après 12 mois de conservation en bouteille. Au regard des conclusions de ces études, il est possible que la présence de ce composé soit impactée par le choix du matériau de l'obturbateur via des phénomènes de « flavor scalping », constatés avec les bouchons synthétiques.



**Figure 5.** Structure chimique et seuils de détection des principales méthoxypyrazines.

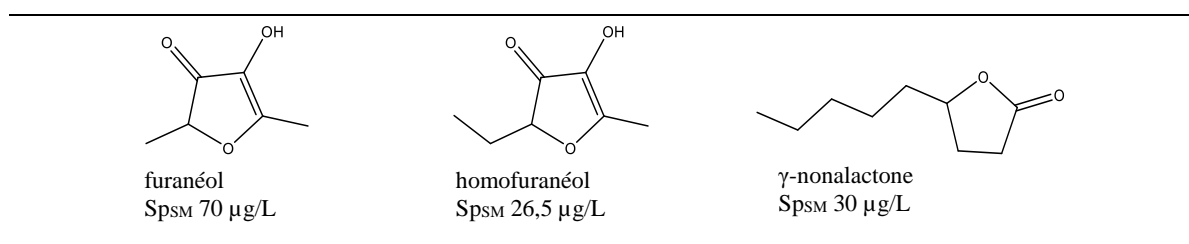
### 2.4. Les furanones et les lactones

Selon le cépage et le niveau de maturité des raisins, les vins rouges peuvent développer des nuances intenses rappelant le fruit cuit, c'est-à-dire, la confiture de fraise, le pruneau voire la figue pour les raisins récoltés en état de surmaturité. Les composés responsables de ces nuances dans les vins rouges ont récemment été identifiés (Allamy *et al.*, 2023). Parmi lesquels on retrouve du furanéol (4-

hydroxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone), de l'homofuranéol (5 (ou 2)-ethyl-4-hydroxy-2(ou5)-méthyl-3-(2H)-furanone) et de la  $\gamma$ -nonalactone. Ils contribuent à ces tonalités par des phénomènes d'interactions perceptives. Selon les vins les teneurs maximales retrouvées atteignent respectivement 198  $\mu\text{g/L}$ , 85  $\mu\text{g/L}$ , et 64  $\mu\text{g/L}$ . Ces composés (Figure 6) sont également retrouvés dans les vins blancs mais à des concentrations beaucoup plus faibles, le plus souvent inférieures à leur seuil de détection.

Ces furanones retrouvées en quantités importantes dans les vins rouges jeunes sont instables au pH du vin et leur concentration diminue au cours du vieillissement (Cutzach *et al.*, 1999 ; Rowe, 2004). Leurs mécanismes de formation dans les vins restent peu étudiés à ce jour.

Toutefois, de Ferron *et al.* (2020), a montré récemment que la  $\gamma$ -nonalactone (Figure 6) est formée sous l'action du métabolisme de la levure par une estérification intramoléculaire de l'acide 4-oxo-nonanoïque lui-même produit par l'oxydation de l'acide linoléique. Cette lactone peut, dans certaines circonstances être retrouvée en quantités importantes ( $\sim 200 \mu\text{g/L}$ ) dans les vins rouges dès lors qu'ils sont très oxydés (Pons *et al.*, 2008). Pour autant, au regard de sa structure chimique et des différentes études menées au sein du laboratoire (Pons, communication personnelle), ce composé semble stable au cours de la conservation en bouteille.



**Figure 6.** Structure chimique des principales furanones et des lactones.

## 2.5. Les esters

Les esters sont des composés odorants formés au cours de la fermentation alcoolique par le métabolisme secondaire des levures par condensation d'un alcool et d'un acide (Lambrechts & Pretorius, 2000). Ils possèdent des seuils de détection compris entre quelques  $\mu\text{g/L}$  à quelques  $\text{mg/L}$ . Certains d'entre eux contribuent de manière importante à la perception fruitée des vins jeunes. A titre d'exemple : le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle (S<sub>psm</sub> 51  $\mu\text{g/L}$ ) est responsable des notes de mûre fraîche (Lytra *et al.*, 2013) tandis que l'acétate d'isoamyle (ester éthylique d'alcool supérieur) est associé à l'arôme de banane dont la concentration est liée aux conditions de fermentation. Certains esters sont également impliqués dans des phénomènes d'interactions perceptives conférant des notes de fruits frais au vin rouge jeune. Par exemple, la combinaison de l'éthyl-3-hydroxybutanoate

(Sp<sub>SM</sub> 14 mg/L) et du 2-méthylpropyl acétate augmente la perception du caractère fruité en abaissant leurs seuils de détection individuels (Lytra *et al.*, 2013). Ces effets de synergie laissent supposer un impact aromatique persistant même à faibles concentrations (Pineau *et al.*, 2009).

Il est à noter qu'au sein des esters éthyliques, certains présentent des évolutions différentes au cours du vieillissement, dues à des phénomènes d'estérification ou au contraire d'hydrolyse acide (Ferreira *et al.*, 1997; Liu, 2002). Les esters éthyliques linéaires à nombre pair de carbone semblent diminuer, alors que pour esters branchés, leurs concentrations se stabilisent ou augmentent (Antalick *et al.*, 2014; Kotseridis *et al.*, 2000). Toutefois, la contribution des esters à la perception aromatique fruitée des vins jeunes diminue en général après deux ou trois ans de vieillissement (Ramey & Ough, 1980) par hydrolyse (Ferreira *et al.*, 1997; Sumbly *et al.*, 2010).

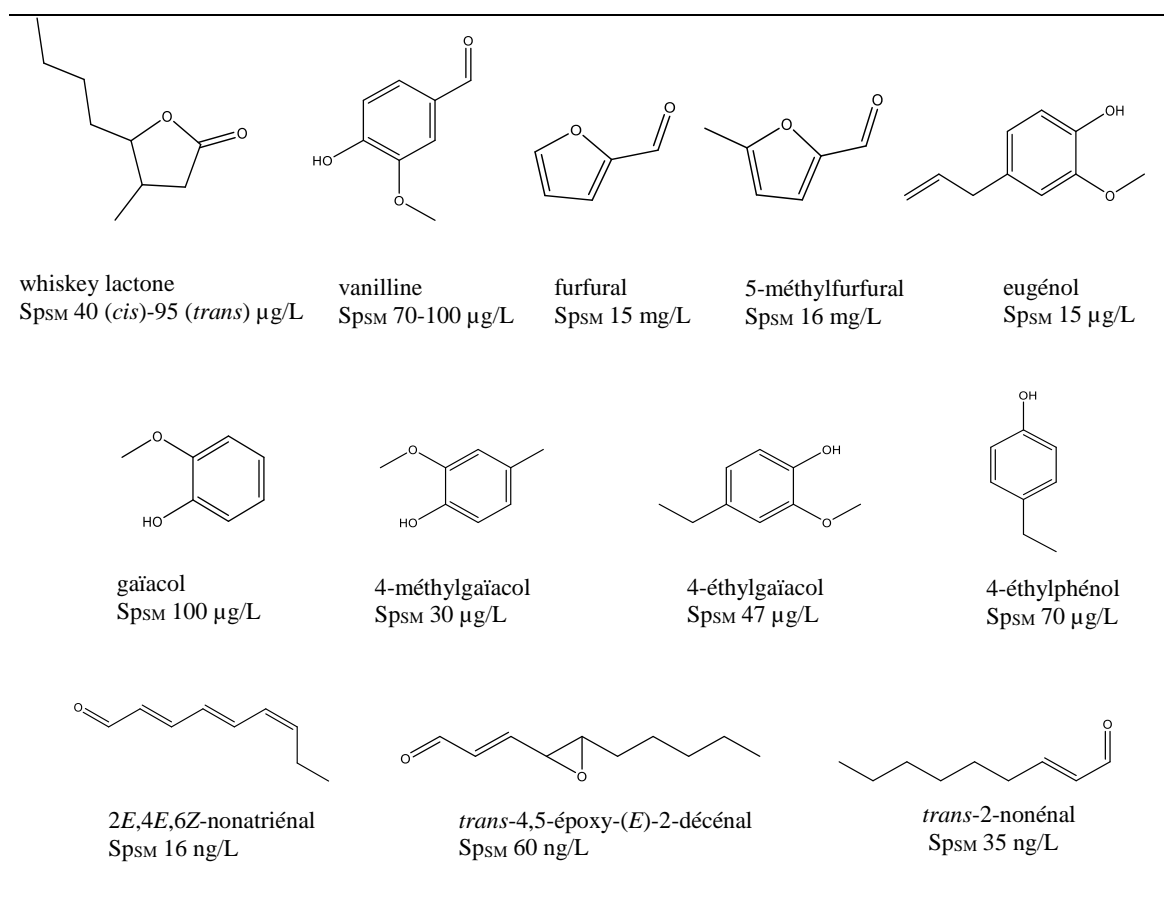
## **2.6. Les composés cédés par le bois (lactones, aldéhydes, phénols...)**

Au cours de la vinification ou lors de l'élevage, il est commun de conserver les vins au contact du bois de chêne par le biais de différentes alternatives (barrisques, staves ou copeaux). Cette étape clef de l'élaboration des vins de qualité permet à la fois de stabiliser les vins, de les préparer à la conservation en bouteille tout en modulant leur palette aromatique (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017). Parmi tous les bénéfices associés à l'élevage sous bois de chêne, ceux concernant les modifications sensorielles sont de premier ordre. En effet, le bois de chêne communique au vin des composés aux notes « boisées », « vanillées », « torrifiées », et « épicées ». L'intensité de ces notes aromatiques varie en fonction de l'origine botanique (*Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Quercus alba*), de l'origine géographique et de l'intensité de la chauffe appliquée au bois (Courregelongue *et al.*, 2022 ; Garde-Cerdán & Ancín-Azpilicueta, 2006 ; Prida & Chatonnet, 2010 ; Spillman *et al.*, 1998 ; Styger *et al.*, 2011).

Le bois de chêne peut céder au vin de nombreux composés odorants (Figure 7) contribuant à leur qualité. Ils appartiennent à différentes familles chimiques au sein desquelles les dérivés furaniques, les phénols, les lactones et les composés carbonylés occupent une place très importante. Certains d'entre eux sont largement décrits dans la littérature, parmi lesquels on retrouve la whiskey lactone rappelant la noix de coco (Brown *et al.*, 2006 ; Wilkinson *et al.*, 2013) ou encore certains aldéhydes tels que la vanilline ou le furfural (Guillén & Manzanos, 2002). Le bois est également capable de libérer différents phénols tels que l'eugénol, le gaïacol ou le 4-méthylgaïacol, tous trois issus de la dégradation de la lignine et contribuant aux notes fumées épicées (Cutzach *et al.*, 1997). Certains de ces phénols du bois sont retrouvés sous formes glycosylées. Selon Chatonnet *et al.*, (1992) leur lente hydrolyse au cours du vieillissement entraîne la libération en faible quantité de phénols volatils tels que le 4-éthylphénol et de 4-éthylgaïacol.

Ces composés sont également capables d'interagir avec les arômes présents initialement dans le vin via des mécanismes d'interactions perceptives, entraînant ainsi des modifications de l'intensité du caractère fruité selon le niveau de chauffe des bois (Cameleyre *et al.*, 2020).

Ces composés retrouvés dans le vin jeune, vont évoluer de manière très différente au cours de la conservation en bouteille. D'après les travaux menés par Pérez-Prieto *et al.*, (2003) sur le suivi de l'évolution des composés du bois sur une période de 12 mois, les concentrations du 5-méthylfurfural et de la vanilline diminuent, tandis que le furfural, les phénols volatils ou encore les lactones voient leurs teneurs augmenter. Le gäïacol ou encore l'alcool furfurylique restent stables.



**Figure 7.** Structure chimique et seuils de détection des principaux composés du bois.

En complément de ces connaissances, les travaux menés récemment par Courregelongue *et al.* (2022) ont révélé l'existence dans les bois de chêne de nouveaux aldéhydes insaturés très odorants. Il s'agit du 2*E*,4*E*,6*Z*-nonatrienal (1) rappelant l'odeur de la pâte feuilletée et du *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décenal (2) rappelant le métal ou l'odeur du sang. Ces composés contribuent à la qualité olfactive des bois de chêne et des vins. Selon Courregelongue *et al.*, (2024) ces composés sont retrouvés en

quantité importante dans les vins rouges et les blancs selon les modalités d'élevage. Les concentrations maximales dans les vins blancs jeunes sont de 60 ng/L pour le (1) et 524,4 ng/L pour le (2). Pour les rouges elles sont de 441,3 et 386,5 ng/L pour le (1) et le (2), largement supérieures à leurs seuils de détection respectifs : 16 ng/L et 60 ng/L. Ainsi, au regard de la distribution de leurs concentrations dans les vins jeunes, ces deux aldéhydes peuvent être impliqués dans l'arôme des vins rouges alors que seul le (1) contribuera de façon significative à l'arôme des vins blancs. Toujours selon cette étude, la présence des composés 1 et 2 diminuent l'intensité des tonalités de fruits frais du vin rouge au profit de notes de fruits confiturés. Pour les vins blancs de Sauvignon et au regard des concentrations retrouvées, seul le composé (2) contribue aux notes de noisette fraîche de certains d'entre eux. A ce jour, leur évolution dans les vins au cours du vieillissement reste peu documentée.

## 2.7. Les composés soufrés

Cette famille de composés d'arômes (Figure 8) tient une place particulièrement importante dans la chimie du vin tant elle joue un rôle prépondérant dans la perception de la qualité. A ce stade, nous distinguerons la famille des thiols volatils dont l'impact sur le bouquet de vieillissement et l'évolution durant la conservation en bouteille sera décrit ci-après et les composés soufrés dits « légers » intervenant dans le défaut de réduction qui feront l'objet d'un développement particulier dans la prochaine partie.

Parmi les composés soufrés, les thiols variétaux sont impliqués dans la perception du fruité des vins et plus particulièrement la typicité des vins de sauvignon blanc. Pour ces vins développant des tonalités rappelant le pamplemousse, les fruits de la passion, le buis ou les agrumes, la présence de trois thiols d'impact permettent d'expliquer ces nuances: le 3-sulfanylhéxanol (3SH), l'acétate de 3-sulfanylhéxanol (A3SH) et la 4-méthyl-4-sulfanylpentane-2-one (4MSP) (Darriet *et al.*, 1995; Tominaga *et al.*, 1998). Selon Rigou *et al.*, (2014), le 3SH contribue également à la perception du caractère fruité du vin rouge. Présents dans le raisin sous forme de précurseurs inodores conjugués à la cystéine, au dipeptide ou au glutathion, ils sont libérés sous l'action d'une  $\beta$ -lyase (Murat *et al.*, 2001) et d'autres mécanismes impliquant les levures (Bonnaffoux *et al.*, 2021). Le 3SH peut également provenir de précurseur en C6 (hexenal) conjugués au glutathion (Thibon *et al.*, 2016).

Il existe d'autres mécanismes de formation des thiols dans les vins. En présence de composés cédés par bois de chêne, la levure est capable de former des dérivés soufrés par réaction enzymatique ou chimique sur ceux présentant une fonction carbonyle. Par exemple, selon les travaux de Tominaga *et al.* (2000) le 2-furanméthanthiol (FFT) à odeur de café torréfié dont le seuil de détection est de 0,4 ng/L en solution modèle (SM) contribue directement à l'arôme des vins blancs et rouges élevés en barrique. Le mécanisme de formation impliquerait la réaction entre le furfural, cédé par le bois de

chêne chauffé et l'H<sub>2</sub>S produit par les levures (Blanchard *et al.*, 2001). Ainsi, un mécanisme de formation faisant intervenir ces deux composés permettrait d'expliquer sa formation au cours de la conservation en bouteille de certains vins blancs.

S'inspirant de ces travaux, Floch *et al.* (2016) ont pu montrer que la vanilline à odeur de vanille pouvait être transformée par le métabolisme de la levure en vanillylthiol, rappelant l'odeur de clou de girofle. Il est à noter que les composés de type thiols possèdent des seuils de détection beaucoup plus faibles que leurs homologues carbonylés. Le benzeneméthanethiol (BM), un autre thiol très odorant (Sp<sub>SM</sub> 0,3 ng/L) rappelant un mélange complexe de pierre à fusil et de fumée est retrouvé particulièrement dans les vins blancs de chardonnay, de sauvignon blanc et de sémillon conservés plusieurs années en bouteille. Ce thiol semblerait provenir de la réaction entre l'H<sub>2</sub>S et le benzaldéhyde (Tominaga *et al.*, 2003a).

Le 2-méthyl-3-furanthiol (2M3F, Sp<sub>SM</sub> 4 ng/L) est identifié pour la première fois par (Bouchilloux *et al.*, 2015) puis quantifié dans différents vins dont les vins de champagne (Tominaga & Dubourdieu, 2006). Cette molécule participe à l'arôme de viande grillée des vins blancs de petit manseng ainsi que certains vins rouges de merlot, cabernet franc et cabernet sauvignon. L'éthyl-3-sulfanylpropionate (E3SP, Sp<sub>SM</sub> 200 ng/L) (Tominaga *et al.*, 2003b) apporte des notes empyreumatiques aux vieux champagnes, tout comme l'éthyl-2-sulfanylpropionate (E2SP, Sp<sub>SM</sub> 500 ng/L) rappelant l'odeur du haricot. Ce dernier composé est retrouvé en quantités plus importantes dans les vins blancs de presse et semble augmenter dans les vins blancs conservés plusieurs années en bouteille (Nikolantonaki & Darriet, 2011).

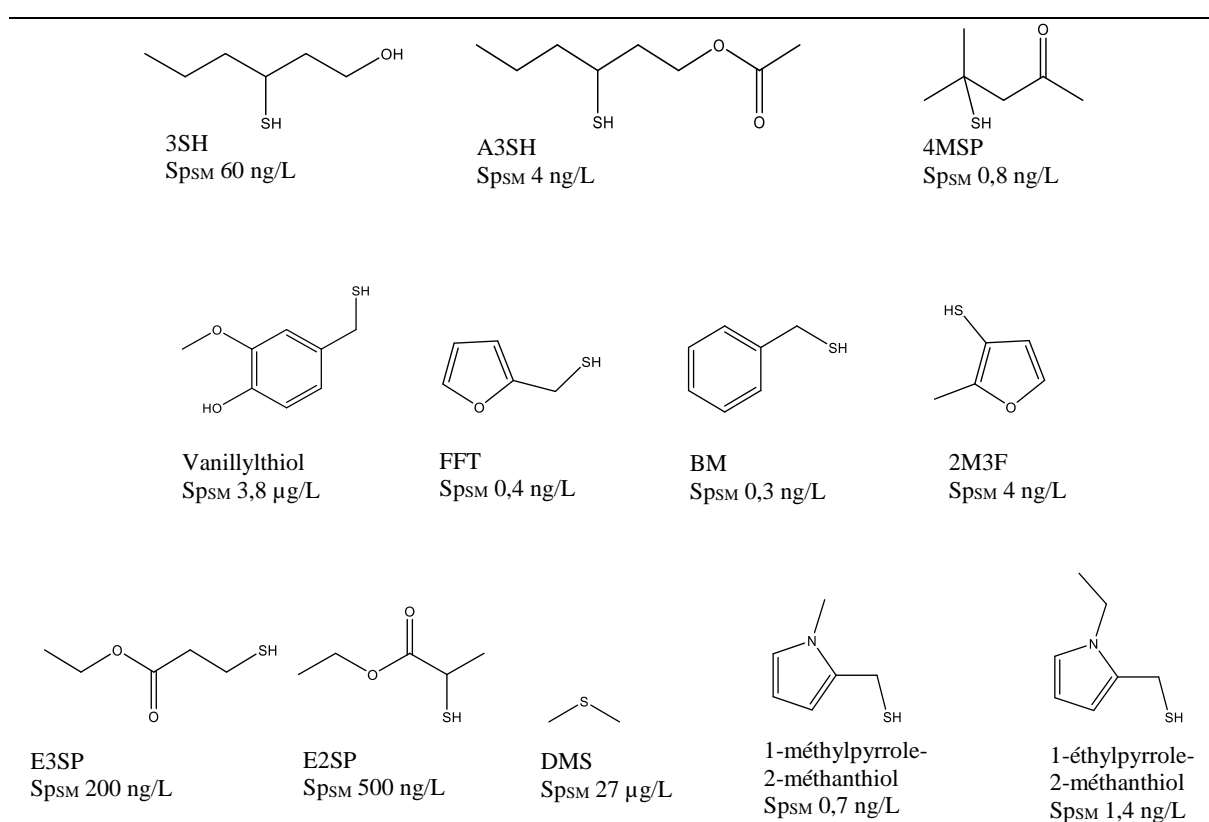
Les vins de chardonnay sont également connus pour développer un bouquet comprenant des notes de noisette, de pierre à fusil ou de pain grillé. Deux composés soufrés ont été identifiés comme responsables de ces notes aromatiques, le 1-méthylpyrrole-2-méthanthiol et le 1-éthylpyrrole-2-méthanthiol (Gros *et al.*, 2017). Ces composés possèdent des seuils de détection de 0,7 ng/L et 1,4 ng/L.

Le sulfure de diméthyle (DMS) est un composé soufré qui tient une place singulière dans la chimie du vin tant sa présence peut soit nuire à la qualité aromatique du vin ou au contraire contribuer à sa singularité olfactive. En effet, ce composé est retrouvé en quantité importante dans les vins dits « réduits » et ceux développant un fruité intense dans leur jeunesse et un bouquet de vieillissement après un long vieillissement en bouteille.

Le DMS provient entre autre de la dégradation de la S-méthylméthionine (Loscos *et al.*, 2008) ou de la cystéine (Fedrizzi *et al.*, 2007). Il augmente au cours de la fermentation alcoolique puis diminue avant la mise en bouteille. Cependant, la teneur en DMS tend de nouveau à augmenter au cours du vieillissement avec des concentrations maximales respectives comprises entre 135 µg/L et 146 µg/L après 16 ans de conservation, pour des vins de Pomerol et Saint-Emillion. Selon les travaux de Picard *et al.* (2015), réalisés sur une série de grands vins de Bordeaux, il contribuerait au bouquet de

vieillessement à des concentrations supérieures à 100 µg/L. Les vins les plus jeunes contiennent en moyenne quelques microgrammes de DMS alors que sa concentration peut atteindre plus de 700 µg/L dans les plus vieux millésimes. Ces concentrations sont largement supérieures à son seuil de détection qui est de 27 µg/L (Anocibar Beloqui *et al.*, 1996).

Les descripteurs associés à la présence du DMS dépendent de sa concentration dans le vin. En effet, aux concentrations les plus faibles le DMS agit comme un exhausteur des notes fruitées des vins rouges (Escudero *et al.*, 2007; San-Juan *et al.*, 2011). A plus fortes teneurs il contribue aux notes d'asperges ou de truffes (Segurel *et al.*, 2004) voire des odeurs de foin ou d'olive verte aux concentrations les plus élevées (Anocibar Beloqui *et al.*, 1996).



**Figure 8.** Structure chimique et seuil de détection des principaux des composés sulfurés.

L'ensemble de ces composés aromatiques (



Tableau 1) provenant de différentes origines au cours de l'élaboration des grands vins vont évoluer en bouteille et contribuer, dans des conditions de conservation appropriées à la complexité aromatique du bouquet de vieillissement.

**Tableau 1.** Evolution des composés du vin au cours de la conservation en bouteille.

Composé	Descripteurs olfactif	Seuil de perception*	Réf	Evolution	Réf
$\beta$ -damascenone	Compote de pomme	40-60 ng/L	1	Augmente	20
$\beta$ -ionone	Violette	0,8 $\mu$ g/L	1	nd	
TPB	Géranium	27 ng/L	1	nd	
TDN	Pétrole, terébentine	2 $\mu$ g/L	2	Augmente	20
Vitispirane	Chrysantème, fleurs exotiques	800 $\mu$ g/L	32	Augmente	31
Tabanone	Épicé toasté	Mélange 8 $\mu$ g/L	7	Augmente	21
Linalol	Coriandre, pétale de rose	30 $\mu$ g/L	1	Diminue	26
Géraniol	Rose	110 $\mu$ g/L	1	Diminue	26
Rotundone	Poivre	16 ng/L	3	nd	
p-menthan	Menthe	Melange 8 $\mu$ g/L	27	Augmente	28
IBMP	Herbe coupée	6 ng/L	1	Stable	24
IPMP	Poivron vert	ng/L	1	Stable	24
Furanéol	Fraise cuite, sucre cuit	70 $\mu$ g/L	4	Diminue	30
Homofuranéol	Fraise cuite, sucre cuit	26,5 $\mu$ g/L	5	Diminue	30
$\gamma$ -nonalactone	Noix de coco, pêche cuite	30 $\mu$ g/L	5	Augmente	25
Esters éthylique d'AG	Fruité	mg/L	1	Diminue	29
Esters branchés	Fruité	mg/L	1	Augmente	29
Alcools supérieurs	Piqué	mg/L	1	Diminue	29
<i>cis</i> -whiskey lactone	Noix de coco	40 $\mu$ g/L	6	Augmente	23
<i>trans</i> -whiskey lactone	Noix de coco	95 $\mu$ g/L	6	Augmente	23
Vanilline	Vanille	70-100 $\mu$ g/L	6	Diminue	23
Furfural	Caramel	15 mg/L	1	Augmente	23
5-méthylfurfural	Caramel	16 mg/L	6	Diminue	23
Eugénol	Clou de girofle	15 $\mu$ g/L	6	Augmente	15
Gaïacol	Fumé	100 $\mu$ g/L	6	Diminue	16
4-Méthyl gaïacol	Epicé	30 $\mu$ g/L	6	nd	23
<i>o</i> -Crésol	Moisi	nd		Augmente	23
Syringol	Fumé	1,8 mg/L	6	Augmente	17
4-Ethyl phénol	Phénolé, cuir	47 $\mu$ g/L	6	Augmente	23
4-Ethyl gaïacol	Phénolé, boisé	70 $\mu$ g/L	6	Augmente	23
(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> )-Nonatriénal	Pâte feuilletée	16 ng/L	14	nd	
<i>trans</i> -4,5-Epoxy-( <i>E</i> )-2-décénal	Métal	60 ng/L	14	nd	
<i>trans</i> -2-Nonenal	Carton	35 ng/L	22	Augmente	22
3SH	Pamplemousse, passion	60 ng/L	8	Diminue	18
A3SH	Passion	4 ng/L	8	Diminue	18
4MSP	Buis	0,8 ng/L	8	Diminue	18
1-méthylpyrrole-2-méthanthiol	Noisette	0,7 ng/L	9	Augmente	9
1-éthylpyrrole-2-méthanthiol	Noisette	1,4 ng/L	9	Augmente	9
FFT	Café torréfié	0,4 ng/L	10	Augmente	10
BM	Empyreumatique	0,3 ng/L	10	Augmente	10
2M3F	Viande grillée	4 ng/L	10	Augmente	10
E3SP	Empyreumatique	200 ng/L	11	Augmente	11
E2SP	Haricot	500 ng/L	11	Augmente	11
DMS	Truffe	27 $\mu$ g/L	12	Augmente	19

\* Solution modèle. nd : Non déterminé, 1 Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017, 2 Tarasov *et al.*, 2020, 3 Siebert *et al.*, 2008, 4 Sarrazin *et al.*, 2007, 5 Allamy *et al.*, 2018, 6 Chatonnet, 1995, 7 Slaghenaufi *et al.*, 2016, 8 Tominaga *et al.*, 2003b, 9 Gros *et al.*, 2017, 10 Tominaga *et al.*, 2003a, 11 Nikolantonaki & Darriet, 2011, 12 Anocibar Belouqui *et al.*, 1996, 13 Slaghenaufi *et al.*, 2016, 14 Courregelongue *et al.*, 2022, 15 Alamo-Sanza *et al.*, 2019, 16 Atanasova *et al.*, 2002, 17 Ristic *et al.*, 2017, 18 Ugliano *et al.*, 2011, 19 Picard *et al.*, 2015, 20 Ugliano *et al.*, 2008, 21 Nonier *et al.*, 2004, 22 Soares da Costa *et al.*, 2004, 23 Pérez-Prieto *et al.*, 2003, 24 Blake *et al.*, 2009, 25 Pons *et al.*, 2008, 26 Ferreira *et al.*, 1997, 27 Frérot *et al.*, 2002, 28 Picard *et al.*, 2017, 29 Antalick *et al.*, 2014, 30 Cutzach *et al.*, 1999, 31 Simpson, 1983, 32 Genovese *et al.*, 2007

### **3. Impact de l'oxygène sur l'arôme des vins conservés en bouteille**

Nous venons de décrire l'ensemble des différentes familles chimiques impliquées dans la genèse d'un bouquet d'évolution des vins blancs et des vins rouges. Certains de ces composés ont une origine variétale, d'autres sont cédés par le bois de chêne alors que certains d'entre eux sont formés au cours de la conservation en bouteille. La majorité de ces composés peuvent être impactés par la présence d'oxygène, modulée par la qualité de l'obturateur (Caloghiris *et al.*, 1997 ; Godden *et al.*, 2001 ; Waters *et al.*, 1996) et bien entendu par la température de conservation (Scrimgeour *et al.*, 2015).

En excès, l'oxygène amène l'arôme du vin vers une évolution oxydative alors qu'en son absence ce dernier peut développer des odeurs dites de « réduction ». Finalement, un apport en oxygène non adapté conduit le vin vers un déséquilibre aromatique qui s'accompagne de détérioration de sa qualité sensorielle.

#### **3.1. Caractérisation sensorielle et moléculaire de l'évolution du vin en lien avec à un apport insuffisant en oxygène : le défaut de réduction**

Le défaut de réduction peut se manifester dans le vin jeune ou lors des premières années de conservation en bouteille. Dans sa forme la plus caricaturale, il est caractérisé par des tonalités aromatiques intenses et déplaisantes à la fois alliacées, d'œuf pourri, de choux ou encore de légumes cuits (Mestres *et al.*, 2000; Ugliano, 2013). Le plus souvent, les vins dits « réduits » présentent une intensité aromatique variétale plus faible, les vins sont également dits « fermés ».

Les composés responsables de cette déviation sont connus. Ils appartiennent à la famille des composés soufrés. L'un d'entre eux, dont l'impact sensoriel est le plus important, est l'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S) présentant un seuil de détection relativement bas (1,1 µg/L) et une odeur rappelant l'œuf pourri (Siebert *et al.*, 2009). D'après les travaux d'Ugliano *et al.* (2012), l'H<sub>2</sub>S contribue à l'odeur de réduction dans les vins conservés en bouteille pour des concentrations pouvant atteindre 3 µg/L.

Les teneurs importantes en H<sub>2</sub>S retrouvées dans les vins réduits sont directement ou indirectement liées au métabolisme secondaire de la levure (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017). Les mécanismes de formation sont nombreux et complexes. Par exemple, l'H<sub>2</sub>S peut se former par l'hydrolyse des thioacétals ou thioacétates (Leppanen *et al.*, 1980; Waterhouse & Laurie, 2006), ou par la réduction des disulfides ou des sulfates en sulfites (Limmer, 2006; Bobet *et al.*, 1990; Swiegers *et al.*, 2005). La présence de glutathion peut également conduire à une augmentation de l'H<sub>2</sub>S dans les vins (Ugliano *et al.*, 2011). Récemment, Bekker *et al.* (2018) ont montré que l'H<sub>2</sub>S accumulé au cours de

la fermentation pouvait former des polysulfates qui, par leur instabilité, peuvent libérer de l'H<sub>2</sub>S au cours de la conservation en bouteille.

De façon générale, le défaut de réduction n'est pas très stable dans le temps. En effet, les composés soufrés étant sensibles aux phénomènes oxydatifs la présence d'oxygène dissous dans les vins conservés en bouteille permet de limiter leur apparition. Par exemple, les travaux d'Ugliano *et al.* (2012) ont permis de montrer qu'un apport en oxygène supérieur à 5 mg/L sur un an diminue significativement la présence de ces composés soufrés dans les vins rouges.

### **3.2. Caractérisation sensorielle et moléculaire de l'évolution du vin en lien avec un excès d'oxygène : le défaut d'oxydation**

Au cours de la conservation des vins un apport en oxygène trop important contribue à la formation de molécules apportant des notes caricaturales, telles que les fruits cuits, (mélange de pruneaux et de figues) pour les vins rouges, le miel et la noix pour les vins blancs. Ce type d'évolution est systématiquement précédée par une perte de notes de fruits frais. Les chercheurs et les professionnels du vin parlent alors d'un vieillissement oxydatif prématuré (Pons *et al.*, 2008).

#### **3.2.1. Mécanismes chimiques associés**

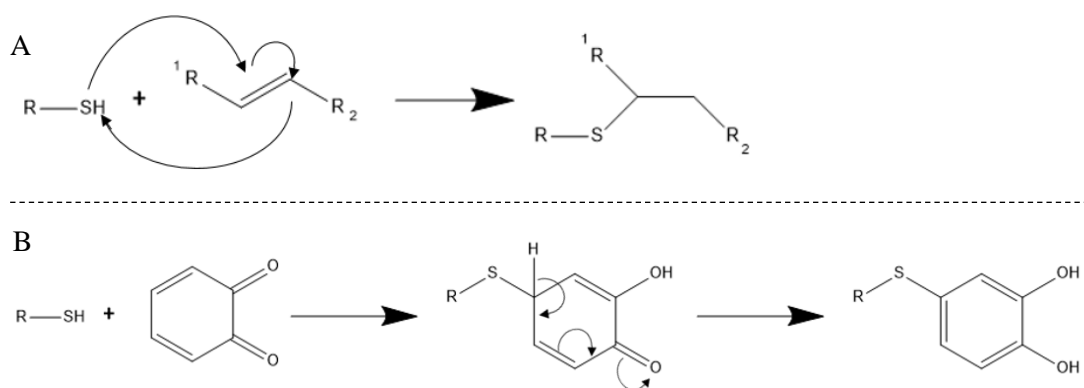
Les mécanismes réactionnels associés à l'oxydation du vin sont nombreux et complexes et peuvent se décomposer de façon très simplifiée en trois étapes. Tout d'abord, l'oxygène en présence de métaux est réduit, permettant la formation de radicaux libres tels que le radical hydroxyle (HO°) ou encore le radical hydroperoxyde (HO<sub>2</sub>°). Le premier est très instable et réagit de manière rapide et non-sélective pour former par exemple l'acétaldéhyde à partir de l'éthanol (Danilewicz, 2003). L'acétaldéhyde ou éthanal peut également provenir de l'oxydation de l'éthanol par le peroxyde d'hydrogène (Saucier *et al.*, 1997), une espèce réactive de l'oxygène. Enfin, la présence simultanée d'espèces réactives de l'oxygène et de métaux, peut induire la formation de quinones, elles-mêmes très réactives qui vont à leur tour réagir par exemple avec des espèces nucléophiles tels que les composés soufrés (Danilewicz, 2003 ; Singleton, 1987 ; Waterhouse & Laurie, 2006).

L'ensemble de ces mécanismes chimiques sont à l'origine de la profonde modification de l'équilibre aromatique du vin.

### 3.2.2. Dégradation de composés odorants

Les premiers signes d'une oxydation non ménagée se manifestent par la perte d'intensité de l'arôme variétal. Au premier rang des arômes variétaux les plus sensibles et les plus réactifs vis-à-vis des réactions d'oxydation on retrouve les thiols volatils (Nikolantonaki *et al.*, 2010 ; Oliveira *et al.*, 2011).

Différentes études ont montré que ces thiols variétaux diminuaient avec l'augmentation de la quantité d'oxygène, probablement en lien avec la formation de quinones (Nikolantonaki *et al.*, 2010; Nikolantonaki & Waterhouse, 2012). Selon leur structure chimique, et en particulier le niveau de substitution du carbone portant la fonction -SH, ces thiols présentent une réactivité différente. En effet, plus le groupement thiol est accessible plus la molécule est sensible (Figure 9). Ainsi, les thiols primaires sont plus sensibles que les secondaires et que les tertiaires (Petit *et al.*, 2015). Par ailleurs, certaines quinones présentent des niveaux de réactivité différents. Par exemple, les quinones formées à partir d'épicatéchine sont plus réactives que celles produites à partir de la catéchine (Nikolantonaki *et al.*, 2010).



**Figure 9.** Mécanismes réactionnels des composés soufrés avec des alcènes (A) et avec des composés phénoliques (B) au cours de l'évolution des vins.

### 3.2.3. Formation de composés odorants

Les réactions chimiques impliquées dans l'évolution de l'arôme des vins blancs et rouges s'accompagnent également de la formation de nouveaux composés. Certains d'entre eux sont présents à l'état de traces dans le vin jeune et augmentent de façon importante dans le vin conservé en présence d'oxygène.

### 3.2.3.1. Composés carbonylés de type aldéhydes de Strecker

Comme présenté dans la Figure 9, les quinones et l'éthanal produits au cours des réactions d'oxydation sont capables de réagir avec des acides aminés présents naturellement dans le vin (Grant-Preece *et al.*, 2013) pour former des aldéhydes dits de Strecker (Figure 10), tels que le méthional ( $S_{SM}$  0,5  $\mu\text{g/L}$ ) ou le phénylacétaldéhyde. Le méthional a pour précurseur la méthionine et apporte une odeur de pomme de terre bouillie au-delà de 2,4  $\mu\text{g/L}$ , son seuil de détection dans les vins (Escudero *et al.*, 2000). Dans les vins oxydés, ses teneurs peuvent atteindre 140  $\mu\text{g/L}$  (Escudero *et al.*, 2000). Le phénylacétaldéhyde ou phényléthanal est issu de la phénylalanine et contribue aux notes de rose fanée et de miel (Silva Ferreira *et al.*, 2003). Son seuil de détection en solution modèle est de 30  $\mu\text{g/L}$  et il peut être retrouvé à des concentrations comprises entre 1 et 53  $\mu\text{g/L}$  dans les vins blancs secs et jusqu'à 150  $\mu\text{g/L}$  dans les vins rouges et les vins bortrytisés (Sarrazin *et al.*, 2007).

### 3.2.3.2. Le sotolon

Un autre composé caractéristique de l'évolution oxydative des vins blancs représenté dans la Figure 10 est le sotolon (3-hydroxy-4,5-diméthylfuran-2-(5H)-one) (Pons *et al.*, 2010). Ce dernier joue un rôle important dans l'arôme des vins élaborés traditionnellement en conditions oxydatives tels que les vins de paille, les vins jaunes du Jura (Martin *et al.*, 1992), ou encore les vins doux naturels (Cutzach *et al.*, 1999). Cette furanone cyclique rappelant le curry est retrouvée dans les vins blancs secs oxydés à des concentrations maximales comprises entre 15 et 20  $\mu\text{g/L}$ , nettement supérieures à son seuil de détection de 2  $\mu\text{g/L}$  (Lavigne *et al.*, 2008). A ces niveaux, ce composé chiral contribue aux odeurs de miel et de cire de ces vins. Selon les travaux de Pons *et al.*, (2008), la distribution des énantiomères du sotolon dans les vins blancs secs est très variable. Toutefois, il semblerait que seul le (*S*)-sotolon, l'énantiomère le plus odorant ( $S_{SM}$  0,8  $\mu\text{g/L}$ ) contribue à l'arôme des vins (Pons *et al.*, 2010).

Le sotolon est produit à partir de l'aldocondensation de l'éthanal et de l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique. Ce céto acide est retrouvé en quantité importante (~10 mg/L) dans tous les vins puisqu'il est formé au cours de la fermentation alcoolique (Pons *et al.*, 2010). Au cours de la conservation en bouteille des vins blancs et en l'absence de  $\text{SO}_2$  libre une fraction d'éthanal libre peut être disponible pour réagir avec l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique. En revanche, dans les vins rouges l'éthanal est souvent impliqué dans des réactions de polymérisation des polyphénols, rendant sa fraction libre beaucoup plus faible. Pour cette raison, il est retrouvé en quantité beaucoup plus faible dans les vins rouges.

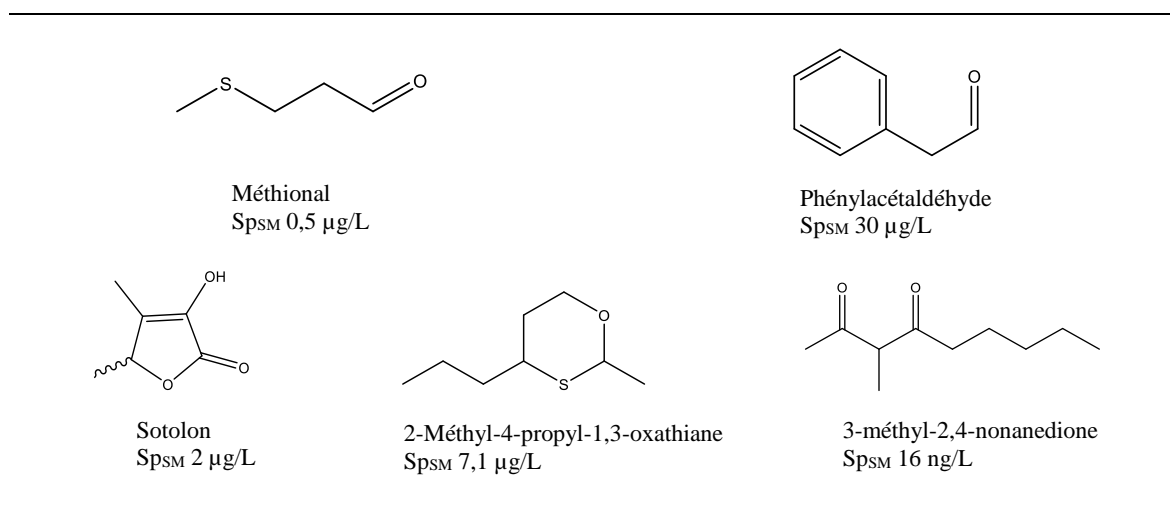
### 3.2.3.3. Formation de l'éthanal et de ses dérivés

Dès lors qu'il est retrouvé sous forme libre dans les vins, c'est-à-dire en l'absence de SO<sub>2</sub> libre, l'éthanal peut être impliqué dans de nombreux mécanismes chimiques. Par exemple, sa réaction avec le 3SH forme le 2-méthyl-4-propyl-1,3-oxathiane (Chen *et al.*, 2018). Identifiée dans le fruit de la passion cette molécule est associée aux arômes « fruité » et « tropical » (Zviely, 2011). Dans le vin, sa concentration peut atteindre 460 ng/L tandis que son seuil de détection, déterminé dans les vins blancs est de 7,1 µg/L. Par conséquent, cette oxathiane (Figure 10) ne contribue pas à l'arôme des vins mais sa présence est en lien avec la diminution des teneurs en 3SH.

Dans les vins très oxydés, le plus souvent élaborés traditionnellement en conditions oxydatives, pour lesquels les teneurs en éthanal sont importantes, l'éthanal peut réagir avec le glycérol pour former des composés hétérocycliques (réactions d'acétalisation) tels les *cis* et *trans*- dioxane et dioxolane. Ces composés contribuent aux nuances des vins oxydatifs, de type madérés (Câmara *et al.*, 2006; da Silva Ferreira *et al.*, 2002), mais aussi les vins blancs de chardonnay (Cejudo-Bastante *et al.*, 2013), de sauvignon blanc (Coetzee, 2014) ou encore rouge de cabernet sauvignon (Han *et al.*, 2019). Dans les vins de Porto, leur concentration peut atteindre 100 mg/L.

### 3.2.3.4. La 3-méthyl-2,4-nonanedione (MND)

Dans les vins rouges, les symptômes d'un vieillissement oxydatif prématuré se manifestent par l'apparition de tonalités rappelant le pruneau et la figue sèche. La MND (3-méthyl-2,4-nonanedione) est une molécule clef de ce type d'évolution (Pons *et al.*, 2008). Son seuil de détection en solution modèle est de 16 ng/L (Pons *et al.*, 2013). A faible concentration (50 ng/L) cette dicétone (Figure 10) diminue l'intensité du fruité des vins rouges tout en modulant la perception des notes fraîches et mentholées. A plus forte concentration (170 ng/L) elle contribue aux odeurs de fruits cuits puis de rancio pour les teneurs maximales retrouvées dans les vins rouges oxydés (330 ng/L). Au cours de leurs recherches sur l'évolution oxydative de l'huile de soja, Guth et Grosch, (1993) identifièrent deux acides gras (l'acide 10,13-époxy-11,12-diméthyl-octadéca-10,12-diénoïque et l'acide 12,15-époxy-13,14-diméthyl-éicosa-12,14-diénoïque) comme précurseurs de la MND. Bien que ces acides gras furaniques aient été identifiés dans les vins de presse, leurs concentrations dans les vins ne peuvent pas expliquer les teneurs en MND retrouvées au cours du vieillissement (Pons *et al.*, 2011). Plus récemment, d'autres précurseurs de type cétole ont été identifiés et permettent d'expliquer la formation de cette dicétone au cours d'un long vieillissement en bouteille (Peterson *et al.*, 2020).



**Figure 10.** Structure moléculaire des composés majoritaires liés aux phénomènes oxydatifs des vins.

### 3.2.4. Aspects moléculaires et technologiques de la préservation de l'équilibre aromatique des vins au cours du vieillissement en bouteille

Tous les vins ne sont pas égaux face à l'oxygène ! En effet, en raison de la présence de composés antioxydants ou au contraire pro-oxydants dans les vins, ce dernier peut développer une sensibilité plus ou moins accrue à l'oxygène.

Les principaux antioxydants des vins blancs sont le SO<sub>2</sub>, le glutathion et l'acide ascorbique (Sonni *et al.*, 2011; Ugliano, 2013). Ces trois composés sont retrouvés naturellement dans les vins mais seuls le SO<sub>2</sub> et l'acide ascorbique peuvent être rajoutés dans des proportions propres au cahier des charges de l'appellation ou de la certification demandée par le producteur.

L'effet protecteur du SO<sub>2</sub> se manifeste de trois façons différentes. Il est capable de réagir directement avec l'oxygène mais cette réaction est lente et donc n'est pas majoritaire. En revanche, il réagit sur les quinones pour former des adduits stables (Figure 9). Le SO<sub>2</sub> est également capable de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau afin de limiter la formation de quinones (Danilewicz, 2003; Danilewicz *et al.*, 2008). Le glutathion est un tripeptide soufré dont les propriétés antioxydantes sont très bien décrites dans la littérature (Lavigne-Cruège & Dubourdiou, 2002). De nombreux paramètres viticoles et œnologiques conditionnent sa teneur dans les raisins et les vins (Lacroux *et al.*, 2008; Pons *et al.*, 2015). Il peut être retrouvé en quantité importante dès lors que le vin a été protégé des phénomènes oxydatifs durant son élaboration. Au regard de sa concentration dans les vins blancs, comprise entre quelques mg/L et plus de 20 mg/L, l'action protectrice de ce tripeptide est également renforcée en présence d'acide ascorbique (Pons *et al.*, 2015).



Le dernier antioxydant est l'acide ascorbique. Il est naturellement présent dans le raisin alors que sa teneur dans les vins est très faible. Pour autant, ajouté avant la mise en bouteille il permet de limiter les effets d'une oxygénation brutale en consommant rapidement l'oxygène dissous (Bradshaw *et al.*, 2011).

Finalement, l'œnologue dispose de solutions permettant d'améliorer les propriétés antioxydantes de ses vins blancs afin de stabiliser les arômes variétaux les plus sensibles. Pour autant, l'utilité de ces actions menées le plus souvent lors de la préparation du vin à la mise en bouteille peuvent être questionnées si les conditions de conservation de sont pas propices au vieillissement en bouteille. Aussi, deux paramètres sont à prendre en considération : la température de stockage et l'apport en oxygène du système d'obturation. Le premier est facilement contrôlable tandis que le second requiert un savoir-faire important.

La dernière partie de ce chapitre introductif au vieillissement des vins propose de décrire brièvement les fondements scientifiques du transfert d'oxygène au travers du bouchon, les développements techniques associés et leurs applications en œnologie.

## Chapitre 2. Connaissances sur l'OTR des obturateurs et son impact sur l'évolution des vins.



# 1. Présentation et caractéristiques techniques des différents obturateurs présents sur le marché

## 1.1. Généralités

### 1.1.1. Les différents types d'obturateurs présents sur le marché

Les obturateurs présents sur le marché peuvent être regroupés en trois grandes catégories : les capsules, les bouchons synthétiques et les bouchons en liège (Figure 11). Les capsules à vis (Figure 11 A) sont composées d'aluminium dont la face interne est recouverte d'une couche thermoplastique à base de polyéthylène (Karbowski *et al.*, 2009). Il existe également des bouchons dits synthétiques (Figure 11 B) composés de polyéthylène de faible densité, de styrène-butadiène-styrène ou styrène-éthylène-butylène-styrène, ou encore d'un mélange de polyéthylène et éthylène vinyl acétate (Crouvisier-Urien *et al.*, 2018). Enfin, les obturateurs les plus utilisés sur le marché du bouchon sont en liège ou à base de liège (*Quercus suber L.*)

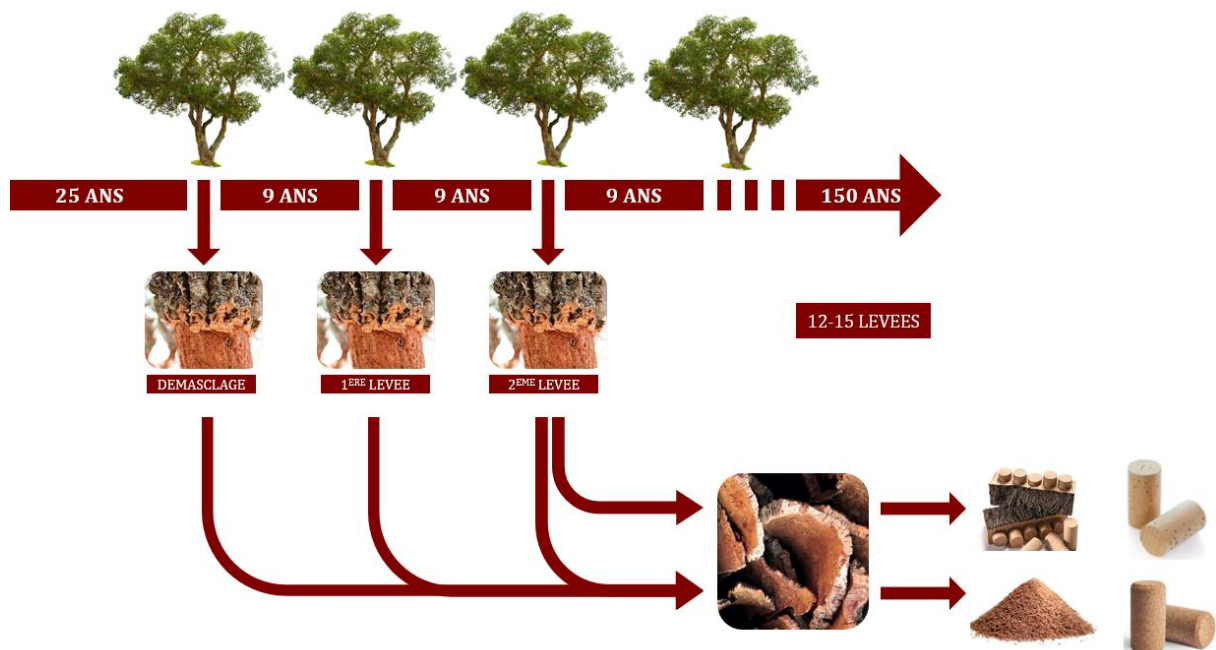


**Figure 11.** Différents types d'obturateurs présents sur le marché des vins tranquilles : capsules à vis (A), bouchons synthétiques (B), bouchons liège naturel (C), bouchons liège colmaté (D), bouchons liège micro-aggloméré (E).

### 1.1.2. Les bouchons en liège

Aujourd'hui encore, le bouchon en liège naturel ou tout au moins en liège, reste plébiscité par le marché des grands vins dits « de garde ». Le liège est le matériau historique utilisé pour le bouchage des bouteilles et plus généralement pour la conservation des liquides. C'est un produit naturel reconnu pour ses performances mécaniques et physiques telles que l'élasticité, la flexibilité, sa compressibilité et sa faible perméabilité aux gaz ainsi qu'aux liquides (Anjos *et al.*, 2010). Le liège est utilisé sur le marché des vins tranquilles sous différentes formes : les bouchons en liège naturel (Figure 11 C), les bouchons colmatés (Figure 11 D) et les bouchons techniques ou agglomérés (Figure 11 E).

Le liège sélectionné pour la fabrication des obturateurs provient de l'écorce du chêne liège ayant atteint au moins 25 ans (tronc d'une circonférence proche de 70 centimètres à 1,30 mètres du sol). Cette première récolte se nomme le démasclage. A ce stade, le liège produit n'est pas assez qualitatif pour la conception des bouchons de liège naturel (Silva *et al.*, 2005). Il peut cependant être utilisé dans la production de bouchons en liège aggloméré. Il faut attendre la deuxième levée du liège femelle régénéré après démasclage ou troisième écorçage (récolte) pour utiliser l'écorce dans la production de bouchons en liège naturel. Il faut attendre au moins neuf ans entre chaque levée pour que l'écorce ait le temps de produire une couche de liège de plus de huit centimètres (Teixeira & Pereira, 2009) (Figure 12). Une fois récoltées, les planches de liège sont nettoyées durant 45 à 90 min dans l'eau bouillante afin d'éliminer les substances hydrosolubles. Cette étape s'appelle le bouillage. Le bouchon en liège est alors obtenu par tubage directement dans l'écorce, puis trié visuellement. Un second « lavage » du liège permet de le désinfecter. Les bouchons colmatés sont des bouchons naturels enduits d'un mélange de colle et de poudre afin de combler les défauts de surface. Les bouchons agglomérés sont produits après broyage du liège en particules de différentes tailles. Ces dernières seront alors assemblées avec des colles avant d'être moulées. En fonction de la taille des particules de liège il est possible de faire des bouchons macro-agglomérés (particules de 3 à 7 millimètres) ou micro-agglomérés (particules de 0,25 à 3 millimètres).



**Figure 12.** Cycle de récolte du liège pour la fabrication de bouchons en liège naturel et technique.

## 1.2. Les différentes caractéristiques techniques d'un obturateur de qualité

Pour les plus grands vins, la conservation sur de nombreuses années pose la question de la qualité du système d'obturation. Ainsi, l'obturateur doit répondre à un cahier des charges précis en lien avec ses performances mécaniques et ses qualités physico-chimiques. Aujourd'hui, il convient de considérer qu'un obturateur de qualité se doit de préserver la qualité du vin sur une durée comprise entre quelques années et quelques dizaines d'années selon la qualité du produit et l'objectif de l'œnologue. Pour ce faire, il se doit d'assurer une étanchéité optimale aux liquides et aux gaz tout en restant neutre d'un point de vue organoleptique.

### 1.2.1. Caractéristiques mécaniques d'un obturateur

Pour ce qui est du bouchage traditionnel (hors capsule à vis) les caractéristiques générales d'un obturateur sont définies par sa longueur, son diamètre, sa masse et sa densité. Par ailleurs, l'industriel se doit d'assurer la performance de son produit en répondant à différents paramètres notamment, la rigidité, le retour élastique, ou encore la force d'extraction. La rigidité, ou compressibilité est la propriété associée à une contrainte (par compression ou traction) appliquée au matériau dans une direction permettant notamment, l'insertion de l'obturateur dans la bouteille (Crouvisier-Urien *et al.*, 2018; Gibson *et al.*, 1981).

Une fois déformé par l'opération de bouchage, le matériau doit être dans la capacité de reprendre forme afin d'assurer l'étanchéité. Cette grandeur est appelée le retour élastique et correspond au diamètre que reprend le bouchon après compression. A titre d'exemple, une déformation du liège naturel de 30 % entraînait un retour dimensionnel quasi-total au bout de 10 jours alors qu'une déformation de 80 % en compression entraîne un retour partiel (90 %) après 70 jours (Rosa & Fortes, 1988).

Le producteur de bouchon tient également compte de l'extractibilité de l'obturateur, c'est à dire sa capacité à être plus ou moins facilement retiré de la bouteille. Cette propriété est également appelée la force d'extraction (Giunchi *et al.*, 2008). Elle fait partie des points de qualité contrôlés par le producteur selon la norme ISO 9727-5:2007. L'application d'un traitement de surface constitué généralement de paraffine, de silicone ou d'émulsions de ces deux constituants, permet de garantir une extractibilité optimale (Abenojar *et al.*, 2014; Gonzalez-Adrados *et al.*, 2012; Labadie & Chatonnet, 2003). De plus, l'ajout d'un traitement de surface dans les dernières étapes de fabrication de l'obturateur améliore ses propriétés d'étanchéité aux liquides (González-Adrados *et al.*, 2008) mais aussi aux gaz (Chanut *et al.*, 2021; Keenan *et al.*, 1999).

Au-delà de ces caractéristiques techniques, la qualité d'un obturateur repose avant tout sur deux aspects : sa neutralité organoleptique ainsi que son étanchéité.

### 1.2.2. Propriétés organoleptiques de l'obturateur

Cette première qualité a fait l'objet de nombreuses controverses au sein de la filière liège en raison de la contamination des vins par le 2,4,6-trichloroanisole (TCA). Le liège, contaminé par des sources variées, apportait au vin des notes de moisi, terreux, champignon et brûlé (Simpson & Sefton, 2007). Les industriels ont donc dû adapter leur mode de production afin de pallier ce défaut appelé le « gout de bouchon ». Pour cela, en complément d'une meilleure sélection des lièges, différentes techniques sont utilisées pour nettoyer le liège telles que la vapeur ou le CO<sub>2</sub> supercritique (Aroso *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2000). Cette méthode permet également d'éliminer d'autres composés odorants tels que la géosmine ou encore des pyrazines (Moreira *et al.*, 2016; Slabizki *et al.*, 2016) capables de migrer du bouchon vers le vin.

A l'inverse, l'obturateur peut être responsable d'un phénomène appelé « flavor scalping » (Blake *et al.*, 2009; Nielsen and Jägerstad 1994; Silva *et al.* 2012; Capone *et al.*, 2003; De La Burgade *et al.*, 2023). Ce phénomène correspond à l'adsorption de composés par le matériau d'emballage entraînant une altération de la qualité du produit emballé. A titre d'exemple, certains composés d'impact dans les vins peuvent subir ce phénomène d'adsorption par le polyéthylène retrouvé dans la fabrication des bouchons synthétiques. La plupart des composés concernés sont non-polaires ou présentent une chaîne alkyle non substituée: l'éthyl octanoate et le linalol (Licciardello *et al.*, 2009), le (*E*)-2-nonéol (Adams *et al.*, 2019), les méthoxypyrazines (Blake *et al.*, 2009) ou encore les composés soufrés et le TDN (De La Burgade *et al.*, 2023; Tarasov *et al.*, 2019).

### 1.2.3. Caractérisation et quantification de l'apport en oxygène par l'obturateur

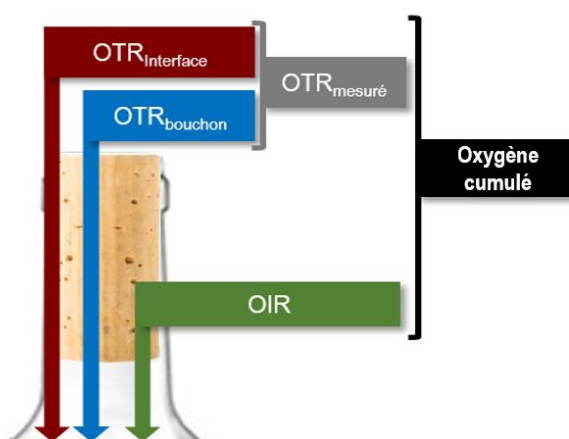
La perméabilité d'un obturateur est définie comme la quantité de masse qui passe au travers d'un système poreux multipliée par l'épaisseur du système par unité de temps, de surface et de gradient de concentration (Karbowski *et al.*, 2009). Elle rend compte de la capacité du matériau à assurer son rôle de barrière aux gaz (Crouvisier Urion *et al.*, 2021; Crouvisier-Urion *et al.*, 2018).

Dans le cas de la conservation des vins tranquilles en bouteille le paramètre qui est suivi est l'Oxygène Transfert Rate ou OTR. D'un point de vue physique, la variable qui rend compte du transfert est le coefficient de diffusion mais d'un point de vue pratique, dans le domaine de l'œnologie, cet apport en oxygène est souvent exprimé en milligramme d'oxygène par unité de temps et représente la

quantité d'oxygène totale apportée au vin par le système d'obturation appelée Oxygène cumulé dans la Figure 13. Au regard des récents travaux menés sur le sujet, il est possible de distinguer différentes voies et séquences d'apport en oxygène par le col de la bouteille (Figure 13) :

- Tout d'abord, l'oxygène peut être libéré par l'obturateur au moment de sa compression lors de la mise en bouteille. Cette compression entraîne la libération de l'oxygène contenu dans la porosité du bouchon (Karbowiak *et al.*, 2009 ; G. Skouroumounis & Waters, 2007). Cette quantité d'oxygène est l'OIR (Oxygen Initial Release). Elle est exprimée en milligramme et correspond selon les études, à la quantité cédée au cours des premiers mois de conservation (Chevalier *et al.*, 2019).
- Dans un second temps, l'oxygène extérieur (air, 21 %) peut diffuser au travers de l'obturateur ( $OTR_{\text{bouchon}}$ ). Cette cinétique dépend de la structure même de l'obturateur et est exprimée en mg/an.
- Enfin, de récents travaux (Chanut, *et al.*, 2021) ont montré que l'interface ( $OTR_{\text{interface}}$  ou OTI) entre le bouchon et le verre (Figure 13) de la bouteille pouvait être une source importante d'apport en oxygène dès lors que le bouchon perd en performances d'étanchéité aux gaz. C'est-à-dire lorsque ses performances mécaniques diminuent avec le temps et bien sûr selon la qualité et la composition du traitement de surface (paraffine, silicone).

Ainsi, selon la durée de la conservation en bouteille et les performances de l'obturateur chacune des trois composantes de l'OTR peuvent contribuer à la quantité d'oxygène apportée au vin. Dans les travaux suivants, l'analyse de l'OTR est réalisée après plusieurs années de conservation. Par conséquent l'OIR des obturateurs n'est pas considéré. Nous parlerons donc de l' $OTR_{\text{mesuré}}$  (Figure 13).



**Figure 13.** Différents points d'apport de l'oxygène par le système d'obturation.



### 1.3. Les méthodes de mesure de l'OTR

Il existe différentes méthodes de mesure de la perméabilité des bouchons à l'oxygène (Crouvisier-Urien *et al.*, 2018) par : titration indirecte du SO<sub>2</sub>, colorimétrie, coulométrie, électroluminescence ou encore par manométrie. Ces méthodes diffèrent par la technologie utilisée, leur mise en application et leur sensibilité.

#### 1.3.1. Titration au SO<sub>2</sub>

La méthode de titration au SO<sub>2</sub> est la plus ancienne, la plus simple mais la moins sensible. C'est une méthode d'analyse indirecte de l'oxygène dissous (Ripper, 1892). Elle se base sur la relation linéaire entre la teneur en oxygène dissous et la concentration en SO<sub>2</sub>. Cette méthode destructive nécessite de réaliser une réaction de titrage par de l'iode. L'OTR se calcule par la formule suivante :

$$\text{OTR} = \frac{\Delta[\text{SO}_2] \times \text{Volume vin}}{\text{Temps en bouteille} \times 5,3}$$

$\Delta[\text{SO}_2]$ :	mg/L
Volume vin :	mL
5,3 :	mg SO <sub>2</sub> / mL O <sub>2</sub>

#### 1.3.2. Mesure par colorimétrie

La méthode colorimétrique est une méthode indirecte d'analyse de la perméabilité en oxygène permettant d'analyser le transfert de gaz dans une bouteille fermée remplie d'une solution de carmin indigo et de benzoate de sodium (Lopes *et al.*, 2005, 2006). Cette méthode met en jeu une réaction chimique entraînant un changement de couleur du jaune au bleu correspondant au changement du milieu passant d'un état réduit à oxydé. L'espace chromatique de la solution aqueuse est mesuré par un spectrophotomètre (CIELAB) au travers de la bouteille en verre translucide. Cette mesure est destructrice et ne peut être réalisée que sur solution modèle et non dans du vin. Sa limite de détection est élevée de l'ordre de 0,01 mmol d'oxygène et nécessite plusieurs mois pour une analyse (Tableau 2).

#### 1.3.3. Mesure par électroluminescence

La mesure de l'OTR peut se faire également par électroluminescence. Ce procédé repose sur la capacité d'un composé luminophore à réagir avec l'oxygène présent dans un milieu (Dieval *et al.*, 2009). Ce composé chimique est greffé sur une pastille collée à l'intérieur de la bouteille. Une sonde émettant une lumière monochromatique va exciter le luminophore dont le temps d'émission est inversement proportionnel au niveau d'oxygène dans le milieu. Cette mesure permet, comme pour

la colorimétrie, de suivre la cinétique d'accumulation de l'oxygène présent dans une bouteille et de pouvoir remonter ainsi à la perméabilité à l'oxygène du système d'obturation. La mesure n'entraîne pas la destruction de l'échantillon mais nécessite de placer la pastille avant d'effectuer la mise en bouteille (Caillé *et al.*, 2010 ; Vidal *et al.*, 2011 ; Vidal & Moutounet, 2007). Le plus souvent, ces mesures de caractérisation de l'OTR de l'obturateur sont conduites sur demi-bouteilles vides préalablement inertées par de l'azote avant bouchage.

#### 1.3.4. Mesure par manométrie

Il est possible de mesurer la perméabilité à l'oxygène des bouchons par la mesure d'un gradient de pression : la manométrie. Le bouchon est découpé en fines lames de trois millimètres d'épaisseur qui seront ensuite placées entre deux compartiments avant analyse. Le premier contient de l'oxygène sous pression (900 hPa) tandis que le second est placé sous vide. L'oxygène va alors diffuser et la perte de pression sera mesurée. Cette méthode est également une méthode destructive (Lequin *et al.*, 2012) et nécessite une extrapolation de la valeur totale de perméabilité de l'oxygène et donc un nombre de répétition par obturateur important pour être statistiquement représentatif (Chanut *et al.*, 2021). Après une étape de dégazage du compartiment sous vide de 24 heures, la diminution de pression est mesurée (Lequin *et al.*, 2012).

#### 1.3.5. Mesure par coulométrie

Il est également possible de réaliser la mesure de l'OTR par le biais d'une méthode proche des conditions de conservation : la coulométrie. Cette méthode est historiquement utilisée pour l'analyse de la perméabilité à l'oxygène des emballages industriels selon la norme ASTM-F1307 (2020). Dans les années 2000, elle a été adaptée à l'analyse des OTR des bouchons de vin (Peck *et al.*, 2006).

Cette méthode nécessite la destruction de la bouteille et un temps d'analyse relativement long pouvant atteindre plusieurs semaines pour une mesure. Cependant, elle est également plus précise avec un seuil de détection de l'oxygène faible ( $10^{-6}$  mmol) (He *et al.*, 2013). La méthode coulométrique ne nécessite pas d'anticipation de préparation d'échantillon et permet d'analyser le système d'obturation entier. En effet, il suffit de découper le col de la bouteille de le coller à l'aide d'une colle époxy sur une plaque en métal reliée à l'appareil par deux tuyaux (Figure 14). Un gaz vecteur ( $N_2$ ,  $H_2$ , 95/5) est envoyé dans l'espace de tête puis vers un détecteur entraînant avec lui les molécules d'oxygène présentes du fait de la perméabilité des bouchons. Le protocole d'analyse sera détaillé ultérieurement (Chapitre 3).

Enfin, il est possible de réaliser la mesure de l'OTR en modifiant les conditions extérieures à l'obturateur. Cette mesure peut être réalisée avec 100 % d'oxygène ou 20.9 % (Diéval *et al.*, 2011; Godden *et al.*, 2005; Hart & Kleinig, 2005; He *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2003). Compte tenu de la durée de la mesure, il est important de prendre en compte l'humidité du gaz vecteur afin d'éviter les

phénomènes de dessèchement des obturateurs (Lagorce-Tachon *et al.*, 2016) impactant ainsi la perméabilité.



**Figure 14.** Représentation du système MOCON OX-TRAN 2/48 utilisé pour la mesure de l'OTR des obturateurs par coulométrie.

### 1.3.6. Bilan

Aujourd'hui, l'industriel et dans une certaine mesure l'utilisateur, disposent de nombreuses techniques d'analyse permettant de mesurer et de contrôler le niveau d'OTR des bouchons et des systèmes d'obturation une fois le bouchon mis en place sur le col de la bouteille.

En fonction de la problématique rencontrée il est important de bien choisir la méthode car chacune d'entre elles présentent des avantages et des inconvénients (Tableau 2). Le choix d'une méthodologie de mesure demeure assujéti à la recherche d'un compromis entre la sensibilité du test, sa durée et son coût. Dans le cas du suivi de l'évolution des vins sur le long terme il est important de sélectionner une méthode permettant de réaliser des mesures sur des systèmes d'obturation ayant évolué au contact du vin (Crouvisier-Urien *et al.*, 2018; Karbowski *et al.*, 2009; Pons *et al.*, 2021).

Pour l'utilisateur, il est aussi important de prendre connaissance du protocole de mesure utilisé. En effet, selon les études, les systèmes d'obturation peuvent être soumis à des conditions extérieures variables : teneurs en oxygène comprise entre 0 %, 4 %, 21 % ou 100 % (Caillé *et al.*, 2010; Prieto

*et al.*, 2011; Wirth *et al.*, 2010, 2012), avec différents gaz (azote, oxygène, air) (Ugliano *et al.*, 2011). L'application de ces conditions particulières peuvent compliquer l'interprétation et la comparaison des résultats obtenus par d'autres protocoles et méthodes.

Finalement, ces méthodes d'analyse sont performantes et permettent d'atteindre des niveaux de sensibilité compatibles avec ceux des meilleurs systèmes d'obturation tels les capsules à vis. Pour autant, comme toute méthode d'analyse, cette grande diversité analytique peut générer des résultats très vraisemblablement différents.

Aussi, une étude comparative des méthodes d'analyse appliquées à un grand nombre de bouchon permettrait une meilleure interprétation des informations retrouvées dans la littérature scientifique et commerciale. En ce sens, la normalisation des conditions d'analyse des bouchons comme celle des unités de mesures (mg/an, mg/L.an, ml/jour, mmol/m<sup>2</sup>.s, mol/Pa.m.s) mériterait d'être envisagée par les industriels, comme cela a été réalisé pour les emballages plastiques.

**Tableau 2.** Caractéristiques des méthodes de mesure de l'Oxygen Transfert Rate (OTR) des bouchons.

Méthode	Temps de mesure	Conservation échantillon	Sensibilité (mmol O <sub>2</sub> ) <sup>a</sup>
Titration SO <sub>2</sub>	Rapide (heures)	NON	0,07
Colorimétrie	Longue (mois)	NON	0,01
Manométrie	Rapide (jours)	NON	5,38 .10 <sup>-4</sup>
Electroluminescence	Longue (semaines)	OUI	2,69-3,42 .10 <sup>-5</sup>
Coulométrie	Longue (semaines)	NON	4,8 .10 <sup>-6</sup>

<sup>a</sup> Crouvisier-Urien *et al.*, 2018

#### 1.4. Distribution et comparaison des niveaux d'OTR des bouchons retrouvés sur le marché

L'ensemble des méthodes décrites précédemment ont permis au fil des années de caractériser de plus en plus finement l'apport en oxygène des nombreux obturateurs présents sur le marché. L'examen de l'ensemble des études menées sur le sujet révèle que les bouchons en liège naturel sont les plus hétérogènes et perméables et ce, quelle que soit la méthode de mesure utilisée. Selon différentes études, les OTR sont compris entre moins de 0,1 mg/an à plus de 250 mg/an (Chatonnet et Labadie, 2003; Godden *et al.*, 2005; Lagorce-Tachon *et al.*, 2016, 2014; Lequin *et al.*, 2012; Lopes *et al.*, 2006, 2005).

Par ailleurs, ces mesures ont été réalisées après différentes périodes de conservation. Elles montrent des apports en oxygène plus importants après 1 mois de conservation qui diminuent progressivement après 12 mois, 24 mois ou encore 36 mois (Lopes *et al.*, 2005, 2006). Ces travaux réalisés il y a plus de quinze ans avaient permis de mettre en évidence l'apport en oxygène par le bouchon lors de la compression (défini par l'OIR dans le cadre de ce travail).

Bien entendu, ces outils ont été appliqués à la mesure de l'OTR des autres systèmes d'obturation présents sur le marché (Crouvisier-Urien *et al.*, 2018). Avec une variabilité plus faible que celle du liège mais des valeurs d'OTR élevées, les bouchons synthétiques peuvent apporter en moyenne de 1,5 à plus de 20 mg d'oxygène par an (Chatonnet & Labadie, 2003; Han *et al.*, 2015; Lopes *et al.*, 2005, 2006; Silva *et al.*, 2003). Selon différents travaux, les obturateurs micro-agglomérés permettent un contrôle plus précis de la perméabilité avec des valeurs d'OTR maximales de près de 8 mg/an (Chatonnet & Labadie, 2003; Godden *et al.*, 2005; Lopes *et al.*, 2005, 2006). Enfin les capsules sont considérées comme les obturateurs les plus étanches avec en moyenne moins de 4 mg/an (Caloghris *et al.*, 1997; Godden *et al.*, 2005; Hart & Kleinig, 2005; Keenan *et al.*, 1999). Toutes ces mesures ont été réalisées sur des bouchons jeunes et ne prennent pas en compte la fatigue de l'obturateur au cours de la conservation au contact du vin.

## **2. Revue bibliographique des études traitant de l'impact de l'obturateur sur l'évolution aromatique et la composition des vins**

### **2.1. Généralités**

Depuis de nombreuses années la question de l'impact de l'obturateur sur la conservation des vins en bouteille aiguise l'intérêt des industriels, des producteurs ainsi que de la communauté scientifique (Tableau 3). Les premières études traitant de l'impact du bouchon sur l'évolution des vins remontent au milieu des années 1990 et se sont intéressées aux vins blancs de chardonnay (Waters *et al.*, 1996). Le plus souvent, les travaux relatant de l'impact de l'obturateur sur la composition des vins s'inscrivent dans la durée afin de mimer le comportement des vins lors d'un vieillissement en cave. Il est peu acceptable d'un point de vue œnologique de provoquer un vieillissement accéléré des bouteilles de vin pour ensuite discuter d'un probable comportement du système d'obturation et de l'évolution du vin dans des conditions de conservation différentes telles que par exemple des températures plus basses. La durée d'une étude sur le vieillissement est comprise entre quelques mois à plus de dix années. Pour cette raison, seule une vingtaine de travaux traitant cette problématique du vieillissement en bouteille ont été publiés depuis 1996.

La première étude menée sur le sujet (Waters *et al.*, 1996) a permis de révéler l'impact d'un bouchage de type liège naturel dans différentes conditions d'oxydation, sur la concentration en antioxydants (SO<sub>2</sub> libre, acide ascorbique) ainsi que sur l'augmentation de la teinte jaune-orangée (DO<sub>420</sub>) d'un vin de chardonnay. Les méthodes d'analyse étaient rudimentaires mais les résultats obtenus ont inspiré la communauté scientifique et ont ouvert la voie à d'autres travaux qui ont étendus leur champ d'investigation à d'autres obturateurs et d'autres cépages.

Parmi les nombreuses études menées sur le sujet, on peut citer par exemple les travaux menés sur à l'évolution des vins blancs de cépages tels que : le sauvignon blanc (Brajkovich *et al.*, 2005; Pons *et al.*, 2021; Pons *et al.*, 2015; Ugliano *et al.*, 2011), le sémillon (Godden *et al.*, 2001; Mayr *et al.*, 2015), le chardonnay (Liu *et al.*, 2015; Rollero, *et al.*, 2020; Skouroumounis *et al.*, 2005) ou encore le riesling (Dimkou *et al.*, 2011; Skouroumounis *et al.*, 2005) mais également à des vins de grenache rosés (Wirth *et al.*, 2012). Les études traitant de l'impact de l'obturateur sur les vins rouges sont plus récentes. Elles se sont intéressées à l'évolution des vins rouges de grenache (Caillé *et al.*, 2010; Prieto *et al.*, 2011; Wirth *et al.*, 2010), de Syrah (Ugliano *et al.*, 2012), de cabernet sauvignon (Han *et al.*, 2015) ou encore de merlot (Vidal *et al.*, 2017) et de leur assemblage (Pons *et al.*, 2022).

## **2.2. Mesure de la perméabilité à l'oxygène des obturateurs**

Les études traitant de ce sujet ont utilisé différentes stratégies en lien avec l'amélioration continue des techniques de mesure des OTR (Tableau 3). Les principales méthodes retrouvées dans la littérature sont la colorimétrie (Lopes *et al.*, 2009) et l'électroluminescence (Caillé *et al.*, 2010; Dimkou *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2015; Prieto *et al.*, 2011; Vidal *et al.*, 2017a; Wirth *et al.*, 2010, 2012).

Pour réaliser la mesure de l'OTR par la méthode d'électroluminescence, les auteurs ont calculé une cinétique de consommation par la mesure de l'accumulation de l'oxygène sur des périodes d'analyse allant de quelques mois (Caillé *et al.*, 2010; Prieto *et al.*, 2011; Ugliano *et al.*, 2011, 2012; Wirth *et al.*, 2010, 2012) à 2 ans (Dimkou *et al.*, 2011) ou encore 5 ans (Han *et al.*, 2015). Cependant, comme Lopes *et al.*, (2005) l'ont montré, l'OTR calculé à partir de la cinétique d'oxygène accumulé les premiers mois, diminue au cours de la conservation. Pour les bouchons en liège naturel ces observations varient d'un obturateur à un autre. Les niveaux d'OTR sont compris entre <0,1 mg/an pour des capsules à vis jusqu'à 17,155 mg/an pour certains bouchons synthétiques.

Les mesures réalisées sur les différents obturateurs révèlent des valeurs parfois nettement plus importantes (Lopes *et al.*, 2009) que les valeurs théoriques considérées par d'autres auteurs (Pons *et al.* 2021 et 2022). En effet à titre d'exemple, les capsules Saran et Saranex ont été mesurées à 0,375 et 0,750 mg/an respectivement pour des valeurs communiquées par l'industriel de <0,1 mg/an et 0,5

mg/an. Les bouchons synthétiques ont été mesurés à des valeurs pouvant atteindre 17,155 mg/an soit plus importantes que celles théoriques considérées à 4,6 mg/an.

Il est à noter qu'aucun de ces travaux ne s'est intéressé à la mesure l'OTR des vieux obturateurs (> 5 ans) et leurs impacts sur le long terme.

### **2.3. Impact de l'obturateur sur les paramètres œnologiques**

Les premières études menées sur le sujet ont pu démontrer l'impact du type d'obturateur (capsules à vis, lièges naturels, synthétiques, lièges techniques) et de la perméabilité du système d'obturation sur la composition des vins blancs (Godden *et al.*, 2001; Waters *et al.*, 1996). Selon ces travaux, le type d'obturateur et sa perméabilité à l'oxygène jouent un rôle la couleur des vins blancs et les teneurs en antioxydants qui tendent alors à diminuer. Ce sont des paramètres faciles à suivre et rapidement impactés par les phénomènes oxydatifs. D'autres paramètres œnologiques tels que le pH, le taux d'alcool (TAV), l'acidité totale (AT) et volatile (AV) ou encore les sucres ne sont pas impactés par l'évolution oxydative des vins (Brajkovich *et al.*, 2005 ; Godden *et al.*, 2001 ; Liu *et al.*, 2015 ; Mayr *et al.*, 2015).

L'utilisation de la notion d'OTR pour caractériser l'apport en oxygène du bouchon en lien avec un type d'évolution du vin a été introduite en 2009 par Lopes *et al.* Ces premiers travaux menés sur une période de 2 ans, établissent un premier lien entre l'OTR mesuré par colorimétrie (compris entre 0,375 et 3,825 mg/an), l'augmentation de la couleur et la diminution des antioxydants. Par la suite, Wirth *et al.*, (2012) étudia l'évolution des vins rosés bouchés avec des obturateurs présentant une gamme d'OTR compris entre 0,073 et 4,34 mg/an, sur une période de 10 mois. Ces mesures ont été obtenues par électroluminescence. Elles montrent que durant cette période les teneurs en SO<sub>2</sub> (libre et total) sont impactées négativement par une perméabilité plus importante. Le SO<sub>2</sub> total diminue de 29 mg/L et 34,7 mg/L tandis que le SO<sub>2</sub> libre diminue de 22,9 mg/L et de 26,2 mg/L. Il en est de même pour le CO<sub>2</sub> dissous dont les teneurs diminuent de manière plus importante lorsque les valeurs des OTR augmentent : 1287 mg/L à T<sub>0</sub> puis 1140 mg/L et 1097 mg/L après 10 mois pour les vins bouchés avec des bouchons présentant respectivement un OTR de 0,2 mg/an et 3,8 mg/an. Plus récemment, ces résultats ont été confirmés par Pons *et al.* (2022) qui montrent qu'une accumulation de l'oxygène dissous au cours de la conservation est possible. Elle est d'autant plus importante que l'OTR<sub>T0</sub> de l'obturateur est élevé. Par exemple, après 10 ans de conservation, des niveaux d'oxygène dissous proches de 400 µg/L ont été retrouvés dans un vin blanc de sauvignon bouché avec un obturateur ayant un OTR<sub>T0</sub> de 4,6 mg/an. Dans cette étude, ces mêmes auteurs montraient la diminution exponentielle de la teneur en CO<sub>2</sub> dissous en fonction de l'OTR<sub>T0</sub>.

Enfin, l'ensemble des travaux s'accordent à dire que plus l'OTR du bouchon est élevé plus l'évolution oxydative de la composition du vin blanc sera rapide, et ce quel que soit le cépage. Mais qu'en est-il de l'évolution de l'arôme et des composés d'arôme de ces vins blancs et rouges conservés avec différents types d'obturateur ?

## **2.4. Impact de l'obturateur sur l'équilibre aromatique des vins**

Au-delà de la composition du vin, l'obturateur impacte également son arôme et son goût. Ces modifications ont donné lieu à de nombreux travaux d'analyse sensorielle complétés par l'analyse fine de ces vins.

Ces études sont menées sur des périodes de conservation plus ou moins longues (6 mois à 14 ans) pour lesquelles différents descripteurs ont été évalués, dont le niveau d'oxydation, l'appréciation du caractère réduit, les tonalités fruitées mais également la couleur (Skouroumounis *et al.*, 2005), l'amertume ou encore l'acidité (Oliveira *et al.*, 2020). Selon différentes études, il apparaît que la perception du caractère oxydé des vins blancs de chardonnay, de riesling ou de sémillon est plus intense pour les vins bouchés avec des obturateurs synthétiques (Godden *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2015; Skouroumounis *et al.*, 2005). A l'inverse, la perception de tonalités associées à la réduction sont perçues de manière plus intense dans des vins conservés avec des capsules (Lopes *et al.*, 2009; Skouroumounis *et al.*, 2005).

S'agissant des vins rouges, les analyses montrent une diminution du caractère réduit, animal et poivré après 10 (Caillé *et al.*, 2010; Prieto *et al.*, 2011) et 18 mois (Vidal *et al.*, 2017) ainsi qu'une augmentation des tonalités fruitées en lien avec une perméabilité à l'oxygène plus élevée. A plus long terme (10 ans) les vins rouges bouchés avec des obturateurs ayant une perméabilité plus importante sur le marché développent des notes oxydées plus importantes (Pons *et al.*, 2022).

Ces études montrent que quel que soit le type de vin, une perméabilité à l'oxygène importante induit une diminution rapide du fruité des vins blancs (Caillé *et al.*, 2010; Wirth *et al.*, 2010, 2012) tout en augmentant l'intensité des tonalités oxydées. La manifestation de ce phénomène est beaucoup plus complexe et lent pour les vins rouges (Prieto *et al.*, 2011; Caillé *et al.*, 2010; Lopes *et al.*, 2009; Pons *et al.*, 2015, 2021, 2022; Prieto *et al.*, 2011; Vidal *et al.*, 2017).

## **2.5. Impact de l'obturateur sur l'évolution de la composition moléculaire fine**

Les principaux enseignements de ces travaux sont les suivants. Dans des vins sauvignon blanc bouchés avec des obturateurs considérés comme plus perméables à l'oxygène (liège naturel vs



capsules) les teneurs en thiols volatils sont les plus faibles (Brajkovich *et al.*, 2005; Pons *et al.*, 2021). Cette diminution des thiols volatils s'accompagne également d'une augmentation des teneurs en sotolon (Lopes *et al.*, 2009; Pons *et al.*, 2021; Pons, Nikolantonaki, *et al.*, 2015) de même que celles en méthional et phénylacétaldéhyde (Pons *et al.*, 2021) ou encore de la teneur en décanoate d'éthyle (Kanavouras *et al.*, 2019). A l'inverse lorsque des bouchons plus perméables à l'oxygène entraîne une diminution des concentrations de composés odorants tels que l'isobutyrate d'éthyle, et l'acétate d'isoamyle (Kanavouras *et al.*, 2019).

L'évolution de la composition moléculaire fine des vins rouges est à ce jour très peu documentée. Une première étude d'Ugliano *et al.* (2012) sur des vins de syrah montrait qu'une exposition à l'oxygène importante, 5 mg/L sur une année de conservation, entraînait une diminution des composés soufrés associés au défaut de réduction (MeSH et H<sub>2</sub>S). Cette diminution de l'H<sub>2</sub>S a également été montrée sur une longue période d'évolution (10 ans), au même titre qu'une diminution du 3SH et une augmentation de la MND pour des obturateurs présentant des valeurs d'OTR<sub>T0</sub> plus importantes (Pons *et al.*, 2022).

## 2.6. Bilan

L'ensemble de ces études ont permis d'apporter un éclairage sur l'évolution des vins blancs et rouges au cours du vieillissement en bouteille et de mieux cerner les avantages qu'un obturateur de qualité peut présenter. Ces connaissances s'appliquent particulièrement aux vins conservés sur une période relativement courte (< 5 ans).

L'ensemble de ces travaux, en s'intéressant pas à pas à l'impact de l'obturateur puis à son niveau d'OTR, ont permis de grandes avancées dans la compréhension de l'impact de la teneur en oxygène sur le vin conservé en bouteille. Ces avancées ont été concomitantes à l'amélioration des techniques de mesure du transfert d'oxygène à travers un obturateur qui reste peu perméable à l'oxygène au regard des niveaux de perméabilité des emballages industriels utilisés pour conserver des produits de grande consommation. Aujourd'hui, les obturateurs techniques proposés par les industriels, tels les capsules et les bouchons synthétiques et micro-agglomérés, sont fabriqués sur la base d'un niveau d'OTR<sub>T0</sub> connu.

Enfin, parmi l'ensemble de ces études il est intéressant de remarquer qu'aucune d'entre elles n'a pu établir un lien entre la valeur de l'OTR mesurée après plusieurs années de conservation et l'équilibre aromatique des vins. Pour autant, à la lumière des récents travaux menés sur le rôle de l'interface dans le transfert d'oxygène (Chanut *et al.*, 2023), la prise en compte de la mesure réelle de l'OTR de l'obturateur après une longue période de conservation pour mieux comprendre l'évolution aromatique des vins blancs et rouges paraît indispensable.

**Tableau 3.** Synthèse des différentes études traitant de l'impact du système d'obturation et de sa perméabilité à l'oxygène sur l'évolution des vins.

Vins	Couleur vin	Durée	Obturbateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution	
Waters <i>et al.</i> , 1996	Chardonnay Vin A : 1995 Vin B : 1991	3 ans	Liège naturel + traitement peroxyde		SO	SO <sub>2</sub> DO <sub>420</sub> Acide ascorbique	-	
			Liège naturel + traitement chlore				+	
			Sous deux conditions : oxydée, non oxydée				-	
Godden <i>et al.</i> , 2001	Sémillon (Australie) 1999 pH = 3,1 Degré d'alcool = 11,1 % v/v Acidité totale = 6,2 g/L (acide tratrique) Acidité volatile = 0,58 g/L (acide acétique) SO <sub>2</sub> total = 95 mg/L SO <sub>2</sub> libre = 50 mg/L DO <sub>2</sub> 420 : 0,112 CO <sub>2</sub> dissout = 0,5 g/L Acide ascorbique = 42 mg/L	20 mois	Synthétique moulé (Aegis)	SO	SO <sub>2</sub> total et libre DO <sub>420</sub> Acide ascorbique Analyse sensorielle : Notes fruitées Notes oxydées	-		
			(synthétique moulé)			+		
			Altec (technical)			-		
			Synthétique moulé (Auscork)			-		
			(synthétique moulé)			-		
			Betacorque (synthétique moulé)			-		
			ECORC (synthétique extrudé)			-		
			Integra (synthétique moulé)			+		
			Nomacorc (synthétique extrudé)			-		
			NuKorc (synthétique extrudé)			+		
One plus one "Twintop" (tech)								
Liège naturel 1								
Liège naturel 2								
ROTE (capsule)								
Brajkovich <i>et al</i> 2005	Sauvignon blanc (Nouvelle Zélande) Acidité titrable = 7,9 g/L, pH = 3,22 Degré d'alcool = 13,0 % Taux de sucre résiduel de 4,5 g/L. Trois lots de SO <sub>2</sub> libre: 20 mg/L / 25 mg/L / 30 mg/L	Blanc	2 ans	Saran tin	<0,52	L	DO <sub>2</sub> DCO <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> total et libre	nm - -
				Liège naturel	-	SO	Thiols volatiles: 3SH, A3SH	-
							DO <sub>420</sub>	nm
							Monomères de polyphenols	nm

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturbateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturbateurs. nm Non modifié

**Tableau 3. Suite.** Synthèse des différentes études de l'impact du système d'obturation et sa perméabilité en oxygène sur l'évolution des vins en bouteille.

Vins	Couleur vin	Durée	Obturbateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution
Skouroumounis <i>et al.</i> , 2005	Blanc	5 ans	ROTE (capsule à vis) Victoria (capsule à vis) Cork 1 (liège naturel) Cork 2 (liège naturel) Synthetic		SO	DO <sub>420</sub>	+
						Couleur (analyse sensorielle)	+
Lopes <i>et al.</i> , 2009	Blanc	2 ans	Nomacorck classic SC saran-tin SC saranex Liège naturel Aggloméré Colmaté Micro-aggloméré	3,825 0,375 0,750 1,125 0,450 0,500 0,375	M	Analyse sensorielle	
						Fruité frais floral	+
						Notes oxydées	+
						Notes réduites	-
						Dosage TDN	> ROTE
						SO <sub>2</sub>	-
						OTR (méthode colorimétrique)	
						DO <sub>420</sub>	+
						SO <sub>2</sub> total et libre	-
						Thiols variétaux : 4MSP et 3SH	-
Sotolon	+						
H <sub>2</sub> S	-						
Acide ascorbique	-						
Analyse sensorielle							
Réduit	-						
Oxydé	+						
Caillé <i>et al.</i> , 2010	Grenache				M	OTR (électroluminescence: PreSens PSt3)	
						Analyse sensorielle	
Prietro <i>et al.</i> , 2011	Rouge	10 mois	Nomacor light (21% O <sub>2</sub> ) Nomacor premium (24% O <sub>2</sub> ) Nomacor premium (4% O <sub>2</sub> ) Nomacor premium (0% O <sub>2</sub> )	4,34 2,92 0,69 0,29	M	Fruité floral	+
						Animal	-
						DO <sub>420</sub>	+
						OTR (électroluminescence: PreSens PSt3)	
						Couleur (CIEL ab)	
Wirth <i>et al.</i> , 2010					M	Analyse sensorielle par « panel électronique »	+
						Couleur (CIEL ab)	+
						SO <sub>2</sub>	-
						Flavan-3-ol	-
						Anthocyanes	-
						Pigments polymérisés	+

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturbateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturbateurs. nm Non modifié

**Tableau 3. Suite.** Synthèse des différentes études de l'impact du système d'obturation et sa perméabilité en oxygène sur l'évolution des vins en bouteille.

Vins	Couleur vin	Durée	Obturbateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution		
Dimkou <i>et al.</i> , 2011	Blanc	2 ans	Nomacorc Classic Capsule aluminium	3,825 <0,1 – 6,8	M	OTR (électroluminescence: PreSens PST3)			
						SO <sub>2</sub>	nm		
						Couleur (CIEL ab)	nm		
						H <sub>2</sub> S	-		
Ugliano <i>et al.</i> , 2011	Blanc	6 mois	Bouchon synthétique (Nomacorc premium) Air extérieur et intérieur (A/A) Air extérieur / N2 intérieur (A/N) N2 extérieur et intérieur (N/N)	1,52 1,18 0,55	M	OTR (électroluminescence: PreSens PST3)			
						3SH	nm		
						MeSH	nm		
						H <sub>2</sub> S	-		
						GSH (Glutathion)	nm		
SO <sub>2</sub>	nm								
Ugliano <i>et al.</i> , 2012	Syrah (Australie) avec et sans micro oxygénation								
	Paramètres	Vin SYR1	Vin SYR2						
	pH	3,7	3,5	Nomacorc classic avec 3 niveaux d'expositions à l'oxygène au cours de la conservation	2,9 4,6 7,9 (mg/L.an)	M	OTR (électroluminescence: PreSens PST3)		
	Sucre résiduels	0,2 g/L	0,5 g/L						
	Alcool	15 %	14,3 %						
	Acidité volatile	0,44 g/L	0,39 g/L						
	Acidité totale	6,4 g/L	6,1 g/L						
	SO <sub>2</sub> libre	26 mg/L	25 mg/L					Rouge	
	SO <sub>2</sub> total	49 mg/L	64 mg/L					12 mois	
	Tannins	870 mg/L	2140 mg/L					-faible	
	Anthocyanes	460 mg/L	446 mg/L					-modéré	
	Ajustement SO <sub>2</sub>							-fort	
	MOX libre	30 mg/L	30 mg/L						
	MOX total	65 mg/L	85 mg/L						
	No MOX libre	30 mg/L	30 mg/L						
No MOX total	67 mg/L	87 mg/L							

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturbateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturbateurs. nm Non modifié

**Tableau 3. Suite.** Synthèse des différentes études de l'impact du système d'obturation et sa perméabilité en oxygène sur l'évolution des vins en bouteille.

Vins	Couleur vin	Durée	Obturbateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution	
2 vins rosés Grenache 2007 (R1 et R2)								
Wirth <i>et al.</i> , 2012	Vin 1	Vin 2				OTR (électroluminescence : PreSens PSt3)		
	50 mg/L SO <sub>2</sub> et macéré 5 h	30 mg/L SO <sub>2</sub> macéré 5 h				DO <sub>420</sub>	+	
	Alcool = 12,6 %	13,22 %	Rosé	10 mois	Nomacorc light (21% O <sub>2</sub> ; R1)	4,340	Anthocyanidines et adduits	-
	Acidité tot = 2,78 mg/L	3,55 mg/L			Nomacorc premium (21% O <sub>2</sub> ; R1)	1,387	Phenyl-pyranoanthocyanidines	+
	SO <sub>2</sub> total = 108 mg/L	106 mg/L			Nomacorc premium (4% O <sub>2</sub> ; R1)	0,328	SO <sub>2</sub>	-
	SO <sub>2</sub> libre = 50,2 mg/L	45,7 mg/L			Nomacorc premium (0% O <sub>2</sub> ; R1)	0,073	CO <sub>2</sub>	-
	pH = 3.52	3,38					Analyse sensorielle	
	CO <sub>2</sub> dissout = 1287 mg/L	1197 mg/L					Fruités et floral	+
	Acetaldehyde = 12,6 mg/L	14,3 mg/L					Animal	-
-----								
Han <i>et al.</i> , 2015	Cabernet sauvignon (2007)						OTR à t=0 (électroluminescence: PreSens PSt 3)	
	Plusieurs traitements :			Nomacork Light	5,80			
	-Contrôle		Rouge	5 ans			SO <sub>2</sub>	-
	-Micro-oxygénation (2,09 mg/L/mois)				Nomacork premium	1,80	DO <sub>620</sub> , DO <sub>520</sub> , DO <sub>420</sub>	+
-Ajout de PVPP (0,25 g/L)						Composition phénolique (quercetine, flavonols)	-	
-Micro-oxygénation + PVPP						Composes carbonylés (quinone, aldehydes)	+	
-----								
Liu <i>et al.</i> , 2015	Chardonnay (Chine) 2006						SO <sub>2</sub>	-
	Sucres = 205,6 g/L						Acetoin - 1-butanol	+
	Acidité totale = 5,12 g/L						2-phenylehanol	+
	pH = 3,76			Blanc	4 ans	Natural cork	1-pentanol	-
						Technical cork	(z)-3-hexen-1-ol	nm
						Nomacorc light	2-nonanol	nm
						Nomacorc classic	Decanoate d'éthyle	-
						Nomacorc premium	Analyse sensorielle	
						Fruité floral	-	
						Oxydé	+	

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturbateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturbateurs. nm Non modifié

**Tableau 3. Suite.** Synthèse des différentes études de l'impact du système d'obturation et sa perméabilité en oxygène sur l'évolution des vins en bouteille.

Vins	Couleur vin	Durée	Obturbateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution	
Mayr <i>et al.</i> , 2015	Sémillon (Australie) pH 3,16 Acidité totale = 6,1 g/L ; acidité volatile = 0,56 g/L SO <sub>2</sub> total = 100 mg/L ; SO <sub>2</sub> libre = 28 mg/L	Blanc	14 ans	Ampoule en verre (Azote) Ampoule en verre (Air = 21% O <sub>2</sub> ) Capsule aluminium (ROTE) Natural bark cork Ref 2 Natural bark cork Ref 3 Bouchon synthétique 1 Bouchon synthétique 2		SO	(E)-2-hexenal, (E)-2-heptenal, (E)-2-octenal, (E)-2-nonenal Méthional, Phénylacétaldéhyde, 3-méthylbutanal, 2-méthylpropanal Furfural, 5-méthylfurfural, hexanal, benzaldehyde Sotolon, Furanéol, homofuranéol Méthionol, eugenol, maltol	nm + + nm + - nm
Pons <i>et al.</i> , 2015	Sauvignon Blanc (Bordeaux) 2003 avec du bois Acide ascorbique ajouté 80 mg/L deux jours avant mise en bouteille GSH ajouté par bouteille à 10 mg/L pH = 3,4 Alcool = 12,4 % Acidité volatile = 0,3 g/L ; totale = 3,4 g/L SO <sub>2</sub> total = 48 mg/L ; SO <sub>2</sub> libre = 21 mg/L O <sub>2</sub> dissout = 1,28-1,35 mg/L	Blanc	10 ans	Amorim liège naturel  Supremcorq synthétique	0,13 – 89,08  2,06 – 39,40	L	DO <sub>2</sub> Acide ascorbique Glutathion Sotolon Analyse sensorielle Oxydé	+ - - + + +
Vidal <i>et al.</i> , 2017	Merlot, tannat (Côtes de Gascogne) 2013 Alcool = 12,9 % Sucres = 2,6 g/L Acidité totale = 3,33 g/L Acidité volatile = 0,43 g/L pH = 3,49 SO <sub>2</sub> libre = 27 mg/L SO <sub>2</sub> total = 68 mg/L CO <sub>2</sub> dissous = 325 mg/L A420 = 2,532 / A520 = 3,379 / A620 = 0,633 Indice de polyphenols totaux = 49	Rouge	18 mois	Synthétique B1 Technique B2 Technique B3 Synthétique B4 Capsule Saranex C1 Capsule Saranex C2 Capsule sans PVDC C3 Capsule sans PVDC C4	5,11 1,825 1,825 17,155 1,825 1,825 24,455 2,555	M	OTR suivi (électroluminescence: PreSens PS(3))  DCO <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> libre et total Couleur Couleur (analyse sensorielle descriptive) Animal et poivre (analyse sensorielle)	- - + + -

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturbateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturbateurs. nm Non modifié

**Tableau 3. Suite.** Synthèse des différentes études de l'impact du système d'obturation et sa perméabilité en oxygène sur l'évolution des vins en bouteille.

Vins	Couleur vin	Durée	Obtimateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution
Kanavouras <i>et al.</i> , 2019	Blanc	1 an	DIAM P0,15 DIAM P0,35		SO	SO <sub>2</sub>	-
						DO <sub>420</sub>	nm
						Isobutyrate d'éthyle, 2-méthylbutyrate d'éthyle, caprylate d'éthyle, acétate d'isoamyle	-
						Décanoate d'éthyle	+
Oliveira <i>et al.</i> , 2020	Blanc	4 ans	Liège naturel 1 Liège naturel 2 Technique 1 Technique 2 Synthétique 1 Synthétique 2		SO	SO <sub>2</sub>	-
						DO <sub>420</sub>	+
						Analyse sensorielle	
						Intensité aromatique	-
						Qualité aromatique (fruité)	-
						Acidité	nm
						Amertume	nm
						Oxydé	+
						Réduit	nm
Pons <i>et al.</i> , 2021	Blanc	10 ans	Capsule Saran tin Capsule Saranex tin Micro aggloméré D30-P0,07 Micro aggloméré D5-P0,15 Micro aggloméré D5-P0,35 Synthétique 1 Synthétique 2 Synthétique 3 Liège naturel 1 Liège naturel 2 Liège naturel 3		L	3SH	-
						4MSP	-
						E2SA	-
						FFT	-
						Sotolon,	+
						Methional,	+
						Phénylacétaldéhyde	+
						H <sub>2</sub> S	-
						DMS	-
						DCO <sub>2</sub>	-
						SO <sub>2</sub> libre et total	-
DO <sub>420</sub>	+						
GSH	-						
Analyse sensorielle							
Oxydé	+						

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturateurs. nm Non modifié

**Tableau 3. Suite.** Synthèse des différentes études de l'impact du système d'obturation et sa perméabilité en oxygène sur l'évolution des vins en bouteille.

Vins	Couleur vin	Durée	Obturbateurs	OTR (mg/an)	Méthode de mesure de l'OTR	Paramètres analysés	Evolution
Pons <i>et al.</i> , 2022	3 différents vins rouges d'assemblage	10 ans	Capsule Saran tin	<0,1	L	SO <sub>2</sub> libre et total	-
			Capsule Saranex tin	0,5		DO <sub>2</sub>	+
			Micro aggloméré D30-P0,07	0,3		3SH	-
			Micro aggloméré D5-P0,15	0,4		H <sub>2</sub> S	-
			Micro aggloméré D5-P0,35	0,6		DMS	nm
			Synthétique 1	0,6		Methional	nm
			Synthétique 2	1,5		Phénylacétaldéhyde	nm
			Synthétique 3	4,6		MND	+
			Liège naturel 1	0,03 – 40		Analyse sensorielle : oxidation	+
			Liège naturel 2				
Liège naturel 3							

SO : Sans objet. L: Données considérées trouvées dans la littérature ou par le fabricant. M : Mesure de l'OTR dans l'étude. - : Diminution avec la perméabilité des obturbateurs. + : Augmentation avec la perméabilité des obturbateurs. nm Non modifié





## Chapitre 3. L'étude de l'arôme des vins : aspects analytiques et méthodologiques



La recherche et l'identification de composés odorants d'impact dans le vin est une entreprise longue, fastidieuse, jalonnée d'embuches mais passionnante. Comme l'ont décrit récemment Chen et Darriet (2021), différentes étapes complémentaires contribuent à la réussite de cette entreprise.

Pour l'analyste, la première étape reste la plus importante. Elle consiste, à bien définir les contours de son sujet d'étude : une note aromatique (fruité, moisi, vanillé...), un caractère provoqué par un phénomène en particulier (maturité des raisins, levures, oxydation, boisage...) et de confirmer la présence de cette odeur par un collègue de dégustateur. Après avoir sélectionné les raisins ou les vins, il usera d'un ensemble de techniques analytiques à sa disposition afin d'extraire les composés d'arômes d'intérêt pour ensuite les séparer avant de pouvoir les caractériser.

Parmi les outils dont dispose l'analyste, on retrouve la chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à différents détecteurs physiques et bien entendu au nez humain. Ainsi, la GC peut être couplée à des détecteurs spécifiques à l'azote (NPD) ou au soufre (PFPD) ainsi qu'à des spectromètres de masse plus ou moins sophistiqués, et bien entendu à l'olfactométrie (GC-O). Selon le niveau de complexité de l'étude, des couplages plus complexes entre chromatographes impliquant des systèmes de détection multiples peuvent être utilisés.

Ce travail peut se prolonger par une étape de synthèse organique lorsque le composé pressenti n'est pas disponible dans le commerce. Il s'achève systématiquement par le développement d'une méthode de quantification du ou des composés d'arôme identifiés et l'application de protocoles d'analyse sensorielle permettant de juger de l'impact du ou des composés sur l'arôme du vin.

Cette approche classique guidée par l'olfaction a permis l'identification de très nombreux composés d'arômes dans le vin. Ces travaux contribuent à la connaissance des déterminants moléculaires de la qualité et également des défauts de ces derniers (Augustyn *et al.*, 1985; Darriet *et al.*, 1995; Rapp *et al.*, 1993; Ribereau-Gayon *et al.*, 1975; Tominaga *et al.*, 1998).

En raison de la complexité de la matrice et donc parfois de la difficulté de séparer des composés proches, ou de disposer d'une quantité suffisante d'échantillon pour identifier des composés à l'état de trace, différentes équipes de recherche ont proposé des stratégies analytiques permettant de surmonter ces divers obstacles.

Aujourd'hui, l'analyste dispose d'un arsenal analytique à la fois riche et varié lui permettant d'atteindre ses objectifs. Par conséquent, cette partie sera dédiée à la présentation des principales techniques analytiques et sensorielles mises à profit pour mener à bien notre étude.

# 1. Méthode d'identification et de quantification des composés d'arômes

## 1.1. Les techniques d'extraction des composés d'arômes

Différentes techniques permettent d'extraire, selon des niveaux de sélectivité et de rendement d'extraction variés, les composés présents dans la fraction volatile des vins. Ces méthodes permettent à la fois la caractérisation et la quantification de ces composés tout en évitant l'altération de la composition du vin durant l'extraction.

### 1.1.1. Extraction liquide-liquide (LLE)

L'extraction liquide-liquide est considérée comme une méthode simple, peu sélective, dont les rendements sont parfois faibles (Andujar-Ortiz *et al.*, 2009; Ortega-Heras *et al.*, 2002). Pour autant, elle reste largement utilisée pour dans l'analyse des composés volatils dans les vins (Chen & Darriet, 2021; Courregelongue *et al.*, 2022; Pons *et al.*, 2008; Sarrazin *et al.*, 2007; Schneider *et al.*, 1998). Elle met en jeu l'utilisation de solvants organiques (seuls ou en mélange) non miscibles avec le vin et présentant, généralement, des points d'ébullition bas ( $T_{eb} < 45$  °C). L'affinité des composés volatils avec la phase organique vient enrichir cette dernière. La concentration sous reflux d'azote permet d'obtenir un extrait organique très concentré contenant les composés odorants cibles.

Cet extrait organique complexe peut être soumis à de l'analyse sensorielle. Le flairage de cet extrait par dépôt d'une goutte sur une mouillette, permet à un jury d'évaluer l'odeur de l'extrait et son niveau de représentativité. Ces tests permettent ainsi d'affiner le choix du solvant d'extraction avant de procéder à son analyse par des techniques analytiques plus fines. Le plus souvent, le dichlorométhane, le pentane voire un mélange des deux solvants donnent les meilleurs résultats (Abe *et al.*, 2010; Leybros & Cote, 2004; Snyder, 1974). C'est une méthode très consommatrice de solvant dont l'automatisation est possible mais délicate.

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

L'extraction sur phase solide est une méthode pouvant être automatisée et consommant moins de solvants que l'extraction liquide-liquide. Elle s'effectue en plusieurs étapes. La première consiste à déposer l'échantillon sur la phase solide pour laquelle les composés volatils étudiés doivent avoir une affinité plus importante que leur matrice d'origine (vin). Ensuite, les composés volatils retenus sur la phase solide sont extraits par l'utilisation de solvants organiques seuls ou en mélange ayant une affinité supérieure. La phase solide est généralement constituée d'adsorbants de silice greffée avec des groupements organiques  $C_8$  ou  $C_{18}$ , maintenus entre deux disques frittés à l'intérieur d'une cartouche.

Cette dernière constituée de polypropylène permet de faire passer les différentes phases liquides par un système de pression positive ou aspiration. En jouant sur la sélectivité des phases stationnaires et le choix des solvants d'élution, cette méthode a permis l'identification de nombreux composés d'arômes dans les vins (Campo *et al.*, 2007; San-Juan *et al.*, 2012).

### 1.1.3. Micro-extraction sur phase solide (SPME)

Cette méthode, dont les premières applications remontent au milieu des années 90 (García *et al.*, 1996; Pawliszyn, 1997), repose sur la capacité de la phase solide utilisée, à adsorber les composés volatils présents dans l'espace de tête (HS-SPME). Cette dernière s'appuie sur la volatilité des arômes et donc d'un coefficient de partage spécifique entre la phase liquide/phase gazeuse et la phase gazeuse et l'affinité du composé avec le polymère greffé sur la fibre. Afin de déplacer ces équilibres et améliorer le rendement d'extraction et ainsi la sensibilité de la méthode, il est possible d'utiliser des sels (NaCl,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), d'agiter le milieu (100 – 600 rpm) et d'augmenter la température (30 – 60°C).

Il est possible d'avoir recours à différentes phases présentant des affinités spécifiques. Les fibres les plus couramment retrouvées sont composées de quatre types de polymères : le polydiméthylsiloxane (PDMS), le polyacrylate (PA), le divinylbenzene (DVB) ou le carboxen (CAR) utilisés seuls ou en mélange. L'utilisation de ces différentes phases d'extraction permet d'augmenter la sélectivité dans la phase d'extraction de composés d'arômes, propriété souvent recherchée dans des méthodes de quantification. La désorption des composés adsorbés sur la fibre se fait à haute température (~230 °C). Cette méthode est souvent une rapide, automatisable et souvent simple d'utilisation.

A titre d'exemple, des composés aussi importants que le DMS (Picard *et al.*, 2015), le TDN (Gök *et al.*, 2019), ou encore la MDN (Peterson *et al.*, 2020) sont quantifiés dans les vins.

### 1.1.4. Méthodes d'extraction complémentaires

Parmi les autres techniques d'extraction on peut retrouver la SBSE (stir bar sorptive extraction), l'extraction sous vide ou la technique SAFE (solvent-assisted flavor evaporation).

Moins sélective que la SPME (Jeleń *et al.*, 2012), la méthode SBSE en est pourtant très proche. Sa phase polymère est plus importante rendant cette technique plus performante mais généralement plus longue (Baltussen *et al.*, 2002; Horák *et al.*, 2010). Il existe moins de phases polymères différentes disponibles sur le marché que pour la méthode SPME mais on y retrouve des polymères de polydiméthylsiloxane (PDMS) majoritairement ou plus récemment le éthylène glycol (Li *et al.*, 2017). Elle offre donc moins de possibilité en termes de sélectivité. Son utilisation en œnologie a pourtant fait ses preuves pour la quantification de divers composés d'arômes (Franc *et al.*, 2009; Maggi *et al.*, 2008; Zalacain *et al.*, 2007), ou des composés associés à des défauts tels que le TCA (Lorenzo *et al.*, 2006; Sponholz *et al.*, 2001).

Généralement utilisée pour l'extraction de composés ayant des températures d'ébullition importantes, l'extraction sous vide s'est révélée très intéressante pour l'étude de la fraction volatile du fruit de la passion jaune (Werkhoff *et al.*, 1998) ou encore pour l'extraction de composés volatils dans le vin (Bouchilloux *et al.*, 1998; Etievant & Bayonove, 1983; Gros *et al.*, 2017).

Enfin, la technique SAFE développée par Engel *et al.* (1999) permet l'extraction rapide des composés d'arômes contenus dans une matrice liquide par application du vide et de faibles températures. Cette méthode réduit les possibilités de formation d'artéfacts et augmente les performances d'extraction (Schlumpberger *et al.*, 2022) permettant de faciliter l'identification ou la détection de composés d'intérêt présents dans de faibles concentrations tels que les thiols volatils (Schoenauer & Schieberle, 2019).

## 1.2. Méthodes de séparation et d'analyse

### 1.2.1. Fractionnement par HPLC

Selon la qualité de la résolution des pics chromatographiques lors de l'analyse des extraits organiques, il est parfois nécessaire de procéder à une purification de l'extrait en vue de sa caractérisation par GC-O ou GC-MS. Les travaux de Ferreira *et al.* en 1999 ont ouvert la voie de l'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance dans un objectif de séparer des composés volatils afin de simplifier la matrice. La séparation des composés est généralement réalisée sur une colonne analytique en phase inverse C<sub>18</sub> accompagné d'un système de pompe pour le contrôle automatique du gradient de solvant (eau/éthanol). Le choix sur solvant est déterminant car il permet le flairage des fractions collectées après réajustement du pourcentage d'éthanol à 10 % vol. En effet, les fractions collectées à intervalle régulier présente un ratio eau/éthanol de 100 % d'eau à 100 % d'éthanol (Courregelongue *et al.*, 2022; Falcao *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*, 1999; Picard *et al.*, 2017; Pons *et al.*, 2008; Stamatopoulos *et al.*, 2014).

### 1.2.2. Technique de séparation des composés volatils par chromatographie en phase gazeuse (GC)

#### 1.2.2.1. Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est une technique de séparation adaptée à l'étude des composés volatils. Sans vouloir rentrer dans le détail des mécanismes impliqués, le principe de séparation est basé sur les différences de volatilité des composés présents dans le mélange et/ou leur affinité avec la phase stationnaire de la colonne analytique.

Un chromatographe en phase gazeuse, composé de deux modules (l'injecteur, le four contenant la colonne), assure la séparation des composés. Il est systématiquement connecté à un détecteur. Dans ce

cas nous parlerons de système monodimensionnel. A l'inverse, lorsque plusieurs chromatographes sont connectés entre eux nous parlerons de chromatographie multidimensionnelle.

Un fois injecté, l'échantillon est volatilisé dans l'injecteur. La séparation s'effectue dans la colonne chromatographique placée dans un four programmable en température. Le gaz vecteur (phase mobile) est le plus souvent de l'hélium voire de l'hydrogène.

L'échantillon préalablement extrait, peut être injecté selon différents modes, entraînant le mélange de l'échantillon avec la phase mobile (gaz vecteur). Le choix de la température d'injection est primordial car elle doit être suffisamment élevée pour volatiliser les analytes tout en évitant leur dégradation. Généralement, une température de 230 - 240 °C est couramment rencontrée dans la littérature.

L'injection peut être réalisée selon deux modes. Le mode « split » permet l'injection de l'échantillon tout en conservant un débit de « fuite » entraînant l'évacuation d'une partie de l'extrait organique concentré afin de limiter l'encrassement de l'injecteur et de la phase stationnaire de la colonne. Cependant, ce mode entraîne une perte d'échantillon et n'est pas approprié pour l'analyse de composés présents à l'état de trace. A l'inverse, le mode « splitless » permet l'injection dans la colonne de tout l'extrait. Enfin il est également possible d'injecter à basse température (~50 °C) directement dans la colonne : injection « on column ». Cette technique d'injection est particulièrement adaptée à l'analyse des composés thermosensibles (Harris *et al.*, 1987; Pons *et al.*, 2016). L'utilisation de ce dernier mode entraîne, cependant un encrassement important de la phase stationnaire.

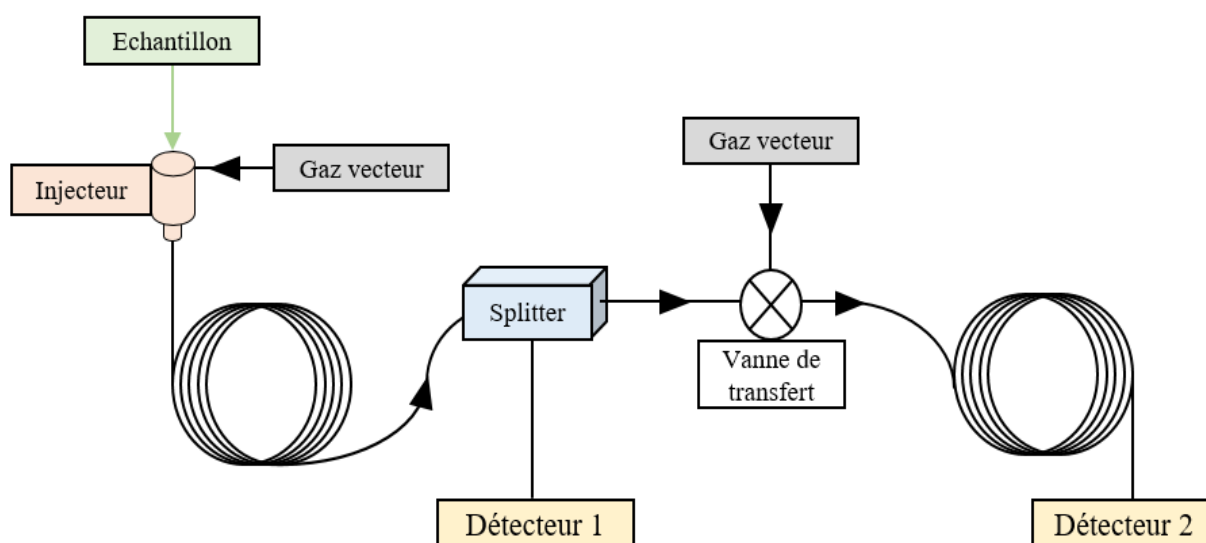
La colonne chromatographique est constituée d'un tube en silice fondue (0,1 – 0,53 mm) recouvert sur sa face interne d'un polymère (0,1 à 5µm d'épaisseur) au contact avec les analytes à séparer. Les colonnes capillaires sont, aujourd'hui les plus utilisées en raison de leur pouvoir de résolution plus important. Les colonnes peuvent être greffées avec de différentes phases plus ou moins polaires. Des colonnes polaires ont été utilisées en routine pour la quantification d'esters, des C13-norisoprénoides (Antalick *et al.*, 2010), des lactones (Pons *et al.*, 2011). D'autres composés tels que les composés dicarbonylés (Revel *et al.*, 2000) ont été analysés sur colonne apolaire. Certaines colonnes peuvent également permettre de réaliser des séparations spécifiques telles que les colonnes chirales permettant de travailler sur les différentes formes énantiomères d'un composé (Lockwood, 2001;). Une fois séparés ces composés vont pouvoir être détectés et quantifiés.

#### 1.2.2.2. Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle avec coupe au cœur (Heart-cutting)

Lorsque la chromatographie monodimensionnelle ne permet pas de séparer efficacement les composés il est alors possible d'avoir recours à l'utilisation de la GC-GC. Il s'agit de collecter une fraction d'intérêt



à la sortie de la première colonne afin de la rechromatographier sur une seconde colonne de polarité orthogonale (polaire/apolaire, apolaire/polaire ou chirale) connectées entre elles par une pièce croix. La fraction volatile d'intérêt peut-être également cryofocalisée et concentrée par un système de piégeage tel qu'un piège cryogénique avec de l'azote liquide (Campo *et al.*, 2007; Pons *et al.*, 2008; Stamatopoulos *et al.*, 2014). Cette méthode analytique peut être couplée à différents détecteurs, comme représenté sur la Figure 15 pour sélectionner la zone à collecter et notamment l'olfactométrie et la spectrométrie de masse (GC-O-GC-O-MS) (Campo *et al.*, 2007; Stamatopoulos *et al.*, 2014). A titre d'exemple et selon les études dédiées à la caractérisation de l'arôme des vins, la durée du « heart cutting » peut être comprise entre 1 min (Pons *et al.*, 2008) et 3 min (Stamatopoulos *et al.*, 2014).



**Figure 15.** Représentation schématique de la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle avec coupe au cœur inspiré de Fernandes *et al.* (2011).

### 1.2.3. Les détecteurs utilisés lors de la recherche et la quantification des composés d'arômes

L'ensemble de ces méthodes de séparation des composés aromatiques nécessitent le couplage avec un système de détection. Dans la chimie des arômes il en existe un très grand nombre dont l'utilisation va dépendre des objectifs de l'analyse et des propriétés des composés. De manière générale, quel que soit le détecteur utilisé, celui-ci permet de définir le temps de rétention d'un composé, un pic, une zone odorante d'intérêt. Ce dernier peut varier en fonction des paramètres analytiques chromatographiques tels que le gradient de température, la polarité de la colonne ou encore le débit de gaz vecteur. Afin de pallier ces paramètres il est commun de calculer l'indice de rétention linéaire (IRL) par l'injection d'alcane et la formule suivante :

$$\text{IRL} = 100 \times \left[ C_n + \frac{\text{TR}_i - \text{TR}_n}{\text{TR}_{n+1} - \text{TR}_n} \right]$$

$C_n$  : Nombre de carbone de l'alcane précédent

$\text{TR}_i$  : Temps de rétention d'intérêt

$\text{TR}_n$  : Temps de rétention de l'alcane précédent

$\text{TR}_{n+1}$  : Temps de rétention de l'alcane suivant

### 1.2.3.1. L'olfactométrie

L'utilisation de l'olfactométrie après une séparation des composés volatils par GC, permet à l'analyste de détecter des composés volatils ayant une odeur (Acree, 1997; Delahunty *et al.*, 2006). Le nez humain fait place au détecteur physique placé à la sortie de la colonne chromatographique. Cette technique permet de caractériser les odeurs perçues, nommées zones odorantes (ZO), selon leur temps d'élution au cours de l'analyse par GC. Cette liste constitue un aromagramme. Bien qu'il soit impossible de quantifier précisément l'intensité des odeurs perçues par GC-O des méthodes de hiérarchisation des odeurs perçues ont été développées par différents auteurs. Voici à titre d'exemple quelques-unes des méthodes les plus souvent rencontrées dans la littérature.

Certaines de ces stratégies sont basées sur des dilutions successives qui permettent de mettre en évidence les ZO les plus intenses (Grosch, 1993; Schieberle & Grosch, 1987) : AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) ou CHARM (Combined Hedonic Aroma Response Measurements). Ces stratégies peuvent être réalisées par un seul dégustateur mais dans ce cas elles ne prennent pas en compte la variabilité interindividuelle et ne rendent pas compte de manière objective de la mesure de l'intensité. De plus elles postulent qu'une relation linéaire existe entre la concentration du composé et l'intensité de sa perception (Thomas-Danguin, 1997). Pour cela, d'autres stratégies peuvent être utilisées. Elles sont basées sur la fréquence de détection des zones odorantes perçues par différents juges : NIF (Nasal Impact Frequency) (Pollien *et al.*, 1997) ou encore SNIF (Surface of Nasal Impact Frequency). Elles prennent en compte la durée de perception (Delahunty *et al.*, 2006).

Ces méthodes sont de bons outils pour amener l'analyste à sélectionner la zone odorante qui présente le plus grand intérêt, étant donné son intensité et l'odeur qu'elle évoque. En revanche, l'utilisation de ces méthodes ne rendent pas compte de leur contribution à l'arôme d'un vin à cause des nombreux phénomènes d'interaction physico-chimiques susceptibles d'interférer avec l'odeur du composé perçu seul en phase gazeuse (Thomas-Danguin, 1997). En revanche, le travail de caractérisation et de quantification sont capables de donner ces éléments d'information.

### 1.2.3.2. Les détecteurs physiques

De très nombreux détecteurs peuvent être connectés à la sortie de la colonne chromatographique. Ils présentent des sensibilités et des spécificités variables. Deux d'entre eux ont été particulièrement utiles pour mener à bien notre étude le détecteur spécifique des composés soufrés (PFPD) et le spectromètre de masse (MS).

#### 1.2.3.2.1. Le détecteur photométrique à flamme pulsée (PFPD)

Ce détecteur présente une forte spécificité pour les composés soufrés, phosphorés et azotés. Le principe de la mesure repose sur l'émission d'une longueur d'onde spécifique de ces composés lors de leur combustion. Le choix de filtres optiques spécifiques permet de suivre chacune de ces familles de composés. Ils sont également applicables, à des fins d'identification de composés volatils dans la chimie des aliments tels que différents fruits (Niu *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2018) ou encore des boissons alcoolisées telles que la bière (Hill & Smith, 2000) ou des liqueurs (Niu *et al.*, 2017). L'utilisation de ce détecteur est généralement complémentaire à l'utilisation de l'olfactométrie et de la spectrométrie de masse (Selli *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2018).

#### 1.2.3.2.2. La spectrométrie de masse (MS)

La spectrométrie de masse est une méthode de détection largement utilisée à la fois dans une approche d'identification mais également de quantification de composés. Elle repose sur sa capacité à fragmenter un composé en ions qui seront spécifiques à une molécule du fait de sa structure chimique : le spectre de masse. Un spectromètre de masse est constitué de trois grandes parties : la source d'ionisation, l'analyseur, et enfin le détecteur.

La source ou chambre d'ionisation est le lieu maintenu à une température élevée (100-250°C) qui permet la formation des ions à partir du composé initial non ionisé [M]. Elle peut se faire selon différents modes dont le plus utilisé pour l'identification de composé aromatiques est l'ionisation électronique (EI). Ce mode nécessite de bombarder les composés élués par un faisceau d'électrons. Il permet de générer une espèce chargée [M<sup>+</sup>] et plusieurs autres ions fils spécifiques du composé permettant d'obtenir un spectre de masse comparable aux banques de données (McLafferty & Turecek, 1993).

Les ions préalablement générés dans la source vont être séparés dans l'analyseur selon leur rapport masse sur charge ( $m/z$ ). Il existe différents types d'analyseurs de géométries différentes présentant des niveaux de résolution unitaires (quadripole, trappe à ions) ou beaucoup plus élevés (TOF, Orbitrap). Dans ce dernier cas, la précision en masse obtenue donne accès aux formules élémentaires des ions analysés et à la formule brute du composé cible.

Certains spectromètres de masse sont capables de fonctionner en tandem, en mode MS/MS, c'est-à-dire en réalisant l'étape d'isolement de l'ion, comme les autres spectromètres de masse, puis en fragmentant, dans l'analyseur, cet ion à l'aide d'un gaz inerte (argon) pour enfin détecter spécifiquement les ions fils. Les niveaux de sensibilité sont généralement très supérieurs à ceux des modes « scan » ou « sim » (selected ion monitoring) (Bouchonnet & Libong, 2004).

### **1.3. Validation d'une méthode de quantification**

Dans un objectif de validation de méthode de dosage, il est important de s'assurer de la fiabilité de la méthode et de sa robustesse. Différents paramètres analytiques doivent être vérifiés définis par la Norme ISO/IEC 17025, 2014.

#### **1.3.1. Justesse**

Une méthode de dosage se doit d'être juste, de respecter l'exactitude de la valeur réelle. Cette exactitude est définie comme l'écart entre la valeur mesurée par la méthode et la valeur exacte de l'échantillon. Pour cela l'analyste dope un échantillon exempt de son composé d'intérêt à une concentration établie et calcul alors l'erreur relative de la mesure qui correspond au pourcentage du rapport de la différence entre la valeur mesurée et la valeur réelle sur la valeur réelle.

#### **1.3.2. Répétabilité**

La répétabilité de la mesure d'une méthode de dosage contribue à la robustesse de cette dernière. Elle est décrite comme la fidélité du résultat et s'assurer que la valeur obtenue pour un échantillon ne varie pas d'une mesure à une autre. En pratique, elle consiste à répéter la même analyse plusieurs fois dans les mêmes conditions. Déterminer par le coefficient de variation, qui correspond au pourcentage du rapport entre l'écart-type et la moyenne d'une série de valeur répétées plusieurs fois.

#### **1.3.3. Linéarité**

Pour réaliser la quantification d'un composé il est important de s'assurer que le signal donné par la méthode soit proportionnel à une quantité de composé présente dans l'échantillon. La linéarité est donc définie dans une gamme de concentration donnée. Elle est établie par une courbe d'étalonnage réalisée par ajout de concentration croissante du composé dans une matrice proche de celle étudiée. La méthode permettra alors de mesurer, pour chaque concentration ajoutée, le signal obtenu. Une droite de régression linéaire pourra alors être calculée selon la formule  $Y = a X + b$  ; et la linéarité sera validée par le coefficient de régression linéaire (Pearson)  $R^2 > 0.99$ .

#### 1.3.4. Evaluation de la sensibilité

Enfin, la quantification de composés d'arômes à l'état de traces nécessite de s'assurer de la sensibilité de la méthode de quantification par la détermination des limites de détection et de quantification. La limite de détection est la concentration minimale pouvant être détectée par la méthode de mesure. En pratique elle peut être évaluée en chromatographie par l'approche dite « signal sur bruit ». En effet la détection en chromatographie gazeuse entraîne la formation d'un bruit de fond quantifiable par la répétition de l'analyse d'un blanc. La limite de détection sera estimée pour une quantité de composé pour laquelle le rapport du signal sur le bruit de fond est égale à 3 tandis que la limite de quantification correspond à un rapport égal à 10.

## 2. L'analyse sensorielle

La perception d'une odeur fait appel à des mécanismes très complexes propres à la physiologie de système olfactif c'est-à-dire de la muqueuse olfactive qui est au contact des composés odorants (Buck & Axel, 1991), jusqu'au cortex cérébral permettant d'initier, entre autre, les phases de représentation (Tempere *et al.*, 2014) et de mémorisation (Tempere *et al.*, 2011). Contrairement aux analyses chimiques, la perception sensorielle d'un composé dans le vin s'avère bien plus complexe. En effet, la caractérisation sensorielle d'un composé peut être influencée par la variabilité interindividuelle (Faurion, 2004) pouvant parfois entraîner des phénomènes d'anosmie spécifiques (Amoore *et al.*, 1968) ou impactée par d'autres paramètres tels que l'âge, le sexe, certaines habitudes (Venstrom & Amoore, 1968). Des tests permettent aujourd'hui d'évaluer les capacités olfactives d'une personne (Thomas-Danguin *et al.*, 2003).

D'un point de vue pratique, l'usage des techniques d'analyse sensorielle, au même titre que les techniques analytiques chimiques décrites précédemment, doit nous permettre de caractériser une odeur pour la quantifier afin de pouvoir distinguer voire classer les échantillons de vin entre eux. Pour ces raisons, la pratique de l'analyse sensorielle occupe une place importante dans l'arsenal des techniques utilisées par l'analyste pour identifier puis déterminer l'impact sensoriel d'un composé odorant.

### 2.1. Généralités sur la mise en place d'une séance d'analyse sensorielle

Afin de rendre l'analyse sensorielle la plus robuste possible, un ensemble de bonnes pratiques de dégustation ont été établies. D'après la norme ISO 8589:2007 la salle d'analyse doit être exempt d'odeur, calme, neutre. La température doit être régulée et comprise entre 18 et 20°C avec une certaine

taux d'humidité (70-80 %) et possédant des postes d'analyse individuels. Le panel de dégustateurs sélectionnés dépend du type d'analyse effectuée mais il est préférable que ce dernier soit à minima qualifié et entraîné selon la norme ISO 8586:2023. Pour toute analyse sensorielle le dégustateur doit signer un consentement et l'organisateur se doit d'assurer leur sécurité alimentaire. Les échantillons à analyser doivent être présentés dans des verres noirs INAOV09 ou dans des verre INAO transparent si la couleur ne présente pas de biais d'analyse. Les échantillons sont codés selon un code à trois chiffres aléatoires et remplis de manière homogène et présentés de façon aléatoire.

## **2.2. Différentes épreuves en analyse sensorielle**

L'analyse sensorielle regroupe un certain nombre de techniques présentées sous formes d'épreuves permettant de mesurer la réponse d'un individu à un stimulus sensoriel. Ces épreuves sensorielles peuvent se différencier selon trois objectifs : un objectif de discrimination, un objectif de description ou un objectif hédonique (non présenté dans ces travaux)

### **2.2.1. Epreuves discriminatives**

Une épreuve discriminative permet, de mettre en évidence des différences ou des similarités entre les échantillons présentés. Il existe de nombreux tests permettant de répondre à cet objectif. Le test discriminatif le plus utilisé et certainement le plus intuitif est le test triangulaire (ISO 4120:2021). Trois verres sont présentés au dégustateur qui doit les examiner. Parmi ces verres, deux comprennent un échantillon identique de référence et le troisième la modalité de comparaison. Il est donc demandé au dégustateur, après un examen dans un ordre aléatoire et randomisé entre les dégustateurs, de déterminer quel est l'échantillon perçu comme différent. Une réponse doit être formulée même si le dégustateur ne perçoit pas de différence. Ce test présente donc une probabilité de trouver le verre par hasard :  $p = 1/3$  et s'avère significatif s'il obtient un nombre déterminé de bonnes réponses en fonction du nombre de dégustateurs et de l'hypothèse de différence ou de similarité formulée statistiquement formulée. Ce test nécessite un nombre de dégustateurs important. Il est également possible de réaliser des tests de tétrade pour lesquels la sensibilité est plus importante donc qui nécessite moins de dégustateurs. L'objectif étant d'associer correctement deux à deux les verres. De nombreux autres tests peuvent être appliqués pour comparer deux échantillons tels que le test duo-trio, le duel standard, le test 2 parmi 5, le ABX discriminatif ou encore l'essai A non A. Les épreuves discriminatives peuvent permettre de comparer plusieurs échantillons par l'utilisation de tests d'appariement. Ce test permet une comparaison simultanée de plus de deux échantillons. Le dégustateur aura devant lui des témoins puis différents verres à examiner pouvant comprendre une répétition du témoin ou plusieurs. L'objectif pour le dégustateur est de regrouper les échantillons avec leurs témoins.

### 2.2.2. Epreuves descriptives

Les épreuves descriptives permettent d'identifier, quantifier, analyser, un ou plusieurs caractères ou différences sensorielles. Ce type de test nécessite un panel constitué de sujets entraînés. Différents tests permettent de travailler sur la caractérisation d'une grandeur sensorielle : test de classement, comparaison par paires, notation simple ; ou sur plusieurs grandeurs sensorielles de manière simultanée par la réalisation de profils sensoriels (ISO 13299:2016). Ce dernier permet de réaliser une description complète d'un produit. Il est généralement conseillé de choisir préalablement des descripteurs d'intérêt et d'entraîner un panel de dégustateurs à la notation de ces descripteurs afin de s'assurer d'un consensus entre nos différents juges. Cette méthode permet d'évaluer différentes tonalités en même temps afin de caractériser un échantillon, cependant les notes sont basées sur les moyennes obtenues par un ensemble de juges pour lesquelles le consensus ne peut pas être total.

### 2.2.3. Cas particulier de la réalisation des seuils de perception

En chimie des arômes, un composé est considéré comme ayant un intérêt sensoriel s'il entraîne une modification de l'arôme du vin. Il est donc important de prendre en compte la notion du seuil de détection ou encore appelé seuil de perception olfactif. Il correspond à la quantité minimale du stimulus sensoriel nécessaire à l'éveil d'une sensation. La détermination du seuil de perception se fait selon la méthode 3-AFC. Il s'agit d'une succession de tests triangulaires pour lesquelles la concentration du composé est croissante. Le sujet analyse chaque niveau de concentration et essaie de déterminer l'échantillon différent. Le seuil correspondra donc à la concentration à partir de laquelle le sujet trouve systématiquement la bonne réponse. En raison des différences entre les individus le seuil est calculer selon la norme ISO 13301:2018 en fonction de la modélisation sigmoïde de la proportion de réponses correctes en fonction du log de la concentration.

## Objectifs de l'étude

Ce travail de thèse est financé par un industriel, la société Diam bouchage, qui fabrique des obturateurs en liège microaggloméré à niveaux d'OTR différenciés. Il a pour ambition d'apporter des réponses qui puissent à la fois satisfaire les besoins de l'industriel tout en ouvrant des perspectives de recherche en termes de nouvelles connaissances dont le milieu académique pourrait s'emparer.

Ce travail est structuré en deux parties. La première est dédiée aux vins blancs alors que la seconde sera consacrée aux vins rouges.

Nombreux sont les travaux ayant sélectionné les bouchons sur la base des OTR mesurés par les fournisseurs. Ces valeurs concernent les bouchons « sec » avant mise en contact avec le vin. Qu'en est-il de l'OTR réel après plusieurs années de conservation en bouteille ? Ainsi, ce travail propose dans un premier temps de parfaire nos connaissances sur la mesure de l'OTR des systèmes d'obturation après plus de 10 ans de conservation. Il sera accompagné par le dosage des marqueurs moléculaires connus, en lien avec la qualité et les défauts des vins de sauvignon et complété par la quantification de nouveaux composés odorants récemment identifiés dans les vins blancs.

La notion de typicité des vins blancs de sauvignon âgés, en lien avec le choix de l'obturateur sera également traitée. La question posée est la suivante : dans quelle mesure le choix de l'obturateur peut-il nuire à la qualité ou au contraire contribuer à la typicité des vieux vins blancs d'une grande appellation de vins blancs à Bordeaux ?

S'agissant des vins rouges, la stratégie est différente car à l'inverse des vins blancs, rares sont les marqueurs moléculaires disponibles pour caractériser leur évolution vers un bouquet de vieillissement. Bien sûr, notre revue bibliographique a permis de montrer que le DMS, le 3SH ou encore le FFT contribuaient à certaines de ces tonalités. Pour autant, au regard de sa complexité sensorielle, nous avons émis l'hypothèse que d'autres composés pouvaient contribuer à ce développement aromatique, à la faveur d'une oxygénation ménagée et contrôlée.

Par conséquent, la seconde partie est dédiée à la caractérisation moléculaire du bouquet de vieillissement des grands vins rouges de Bordeaux. Elle décrit le cheminement analytique que nous avons suivi, empruntant des stratégies de purification et de caractérisation retrouvées dans la littérature tout en proposant une nouvelle stratégie de caractérisation des thiols volatils retrouvés dans les vieux vins rouges. Cette dernière partie sera complétée par les tout premiers résultats de la quantification de ces nouveaux composés, validant ainsi leur implication dans la genèse du bouquet de vieillissement des grands vins rouges.





---

PARTIE II. Etude de l'impact de l'obturateur sur  
l'évolution aromatique des vins blancs de sauvignon

---



Chapitre 4. Etude de l'impact du type d'obturateur et du niveau d'OTR sur la composition et l'arôme des vins de sauvignon de Bordeaux



Les premiers travaux traitant de l'impact de l'obturateur sur la qualité et la composition des vins blancs remontent au milieu des années 90. C'est d'ailleurs à cette même époque que les premiers diagnostics de l'évolution prématurée des grands vins blancs de Bourgogne ont été signalés. A la suite de ces premières observations, de nombreuses équipes de recherche se sont penchées sur cette problématique dont les conclusions ont permis d'établir un diagnostic précis des causes et des composés odorants responsables de cette évolution singulière du vin.

Aujourd'hui, il est acquis que la contribution du système d'obturation à cette évolution prématurée, par l'oxygène qu'il apporte, peut être très importante tant sur l'équilibre aromatique que sur la couleur, et ce, quel que soit le cépage. Grâce à l'identification des déterminants moléculaires de la qualité aromatique (thiols volatils) et des défauts (aldéhydes de Strecker, sotolon) des vins blancs de sauvignon, de récents travaux ont pu montrer qu'un apport d'oxygène régulier et faible ( $OTR_{T0} \sim 0,3$  mg/an) permettait d'éviter la formation des composés associés au défaut de réduction, de préserver la composante variétale tout en retardant l'apparition des symptômes d'un vieillissement oxydatif et banalisant (Pons *et al*, 2021). Les travaux menés en parallèle par l'équipe de l'université de Dijon ont permis révéler l'hétérogénéité des propriétés de transfert d'oxygène de l'obturateur en liège tout en précisant les niveaux d'apports des autres obturateurs techniques, synthétiques et les capsules à vis (Crouvisier-Urien *et al.*, 2018).

Pour autant, l'ensemble de ces travaux portent généralement sur des bouchons fournis par les fabricants et n'ayant subi aucun contact prolongé avec le vin, c'est-à-dire n'ayant subi aucune dégradation des propriétés physiques. Se pose alors la question de la stabilité de l' $OTR_{T0}$  dans le temps et d'une certaine manière de la connaissance de la valeur de l' $OTR_T$  des bouchons en place, conservés plusieurs années.

Par ailleurs, les nombreux travaux traitant de l'impact de l'obturateur sur la qualité de conservation des vins en bouteille ont abordé ce sujet par le prisme du bouchon. Il s'agissait d'évaluer l'impact du type de bouchon sur la qualité et la composition du vin. L'ensemble des travaux menés sur le sujet s'accordent pour affirmer que le rôle du bouchon sur l'évolution d'un type de vin donné, qu'il soit de sauvignon, de chardonnay, de riesling, de sémillon seul ou dans un assemblage, est important. Mais qu'en est-il, si l'on se positionne au sein d'une appellation où la diversité des modes de production (tout en respectant le cahier des charges de l'appellation) et des terroirs peut être une source de variabilité synonyme d'originalité.

C'est à ces deux questions que ce chapitre propose d'apporter des éléments de réponse.

Ce travail doit être valorisé sous forme d'une publication dans le Journal of Agricultural and Food Chemistry intitulée « Impact of closure type and measured oxygen transfer rate (OTR) on aroma compound composition and sensory perception of Sauvignon blanc wines ». Les auteurs sont Emilie Suhas, Cécile Thibon, Christophe Loisel, Philippe Darriet et Alexandre Pons. Par conséquent, ce chapitre sera rédigé en anglais au format d'un article scientifique.



# 1. Introduction

The quality of white wines aged for many years in the bottle is closely linked to their aromatic balance. The best aging conditions allow the wine to retain its varietal fruity aromas for many years and to develop new aromatic nuances, making its expression more complex and synonymous with uniqueness, a phenomenon known as the aging bouquet.

The evolution of the composition of aroma compound during bottle aging involves a balance between complex chemical mechanisms with or without oxygen. These mechanisms include Fenton reactions (Elias & Waterhouse, 2010), hydration/dehydration (Pedersen *et al.*, 2003), hydrolysis (Garofolo & Piracci, 1994; Sumby *et al.*, 2010), Maillard reactions (Kertsch *et al.*, 2023), and the release of volatiles from unstable forms bound with sulfites (Carrascón *et al.*, 2017). Of course, the kinetics of these mechanisms is strongly influenced by temperature (Marais *et al.*, 2017; Presa-Owens & Noble, 1997; Scrimgeour *et al.*, 2015). Nowadays it is well accepted that the quality of grapes, winemaking practices (Presa-Owens & Noble, 1997) and oak wood maturation conditions play an important role in the production of high-quality wine, whereas storage conditions and the closure system are of paramount importance in the evolution of wine quality during bottle aging (Echave *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2011; Skouroumounis *et al.*, 2005).

The wine closure industry can be divided into three main categories corresponding to different materials and technologies: screw closures, synthetic closures and cork-based closures (Furtado *et al.*, 2021). Three main types of cork stoppers (*Quercus suber* L.) are used to seal wine bottles: natural cork stoppers, technical stoppers, including agglomerated cork stoppers (0.2-9.00 mm granulation), and microagglomerated cork stoppers (0.25-3.00 mm granulation) (ISO 633:2019), and stoppers (1+1) with an agglomerated central part and two natural cork discs glued to both ends of the stopper (Azevedo *et al.*, 2022; Furtado *et al.*, 2021; Gil, 2009). For these closures, the granules can then be washed with steam or treated with supercritical CO<sub>2</sub>, a process which eliminates traces of 2,4,6-trichloroanisole (TCA) that can contaminate wine during storage (Taylor *et al.*, 2000).

The first studies carried out on the role of closures in the premature evolution of white wines date back to 1996 (Waters *et al.*, 1996). Since then, the relationship between the quality of closures and their oxygen permeability, also known as the oxygen transfer rate (OTR, mg/year), has been shown to be involved in the rapid or premature evolution of wine aroma (Brajkovich *et al.*, 2005; Godden *et al.*, 2005, 2001; Pons *et al.*, 2021; Skouroumounis *et al.*, 2005). This intrinsic parameter corresponds to the total amount of oxygen imparted by the closure during bottle aging (Crouvisier-Urión *et al.*, 2018; Lopes *et al.*, 2007). It also includes the amount of oxygen contained in the cork microstructure that is slowly released after sealing. Recently, Chanut *et al.* (2021) emphasised the importance of surface treatment and the closure/bottleneck interface on the OTR.



According to Crouvisier-Urion *et al.* (2018), several techniques can be used to determine the OTR of closures. They differ in their sensitivity and duration of the analysis but seem to be able to give similar OTR values (Echave *et al.*, 2021). The manometry technique offers a compromise between sensitivity and speed, whereas the coulometric technique presents the best performances in terms of sensitivity. For this reason, this latter is historically and frequently used in the packaging industry and is recommended in different standards concerning the measurement of OTR of films ASTM-F1307 (2020). The technique was extrapolated in the middle of the 2000s for measuring the OTR of closures (Peck *et al.*, 2006). The chemiluminescence method is also used in the wine industry for measuring the OTR<sub>T0</sub> of stoppers, thanks to its low cost and high performance in terms of sensitivity and ease of use (Diéval *et al.*, 2011). However, the main drawback of all these techniques is that it is impossible to monitor the evolution of the OTR of the same closure used to seal a bottle filled with wine.

According to Crouvisier-Urion *et al.*, (2018) and Robertson, (2009), natural cork stoppers offer the most heterogeneous performances in terms of OTR values, ranging from 0.1 to more than 250 mg/year. Screwcaps are on average the least permeable, followed by micro-agglomerate and then synthetic stoppers. Most of these OTR measurements have been carried out on new stoppers, with only a few of them used to seal bottles of wine kept for less than five years. However, some measurements were conducted on sections of new stoppers whereas most were carried out on entire bottlenecks to study the impact of the OTR (provided by the manufacturer) on the evolution of the aroma of the wine (< 5 years).

Knowledge and control of the OTR is of great importance for the manufacturer as well as for the end user, the winemaker. Too little oxygen may lead to the formation of reductive off-flavours (Ugliano *et al.*, 2011), whereas an excess systematically causes an aromatic imbalance accompanied by the loss of fresh fruity aromas while developing overwhelming odors reminiscent of boiled potatoes and honeybees (Escudero *et al.*, 2000; Pons *et al.*, 2010).

The specific aroma developed by young Sauvignon blanc wines is due to the presence of fragrant thiol compounds such as 3-sulfanylhhexanol (3SH) and 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one (4MSP) which are reminiscent of grapefruit/passion fruit, boxwood, and broom flowers, respectively (Darriet *et al.*, 1995; Tominaga *et al.*, 1998). Another thiol has been identified as contributing to the roasted coffee aroma of young wines aged in oak barrels (Tominaga *et al.*, 2000) and to the aroma of aged champagne (Tominaga *et al.*, 2003b): 2-furanmethanethiol (FFT). These thiols are considered to have an important sensory impact because of their low detection thresholds: 60 ng/L, 0.8 ng/L, 0.4 ng/L respectively for 3SH, 4MSP and FFT, respectively (Tominaga *et al.*, 1998, 2003b).

These compounds are very sensitive to oxidation reactions (Kreitman *et al.*, 2017; Nikolantonaki & Waterhouse, 2012). Thiols are nucleophilic compounds with strong reactivity towards reactive oxygen species (ROS) produced through an oxidative chain reaction catalysed by metal ions (Danilewicz, 2003; Nikolantonaki *et al.*, 2010). The odorant thiols trapped by the quinones lead to a reduction in their

concentration and a loss of fruity notes (Nikolantonaki *et al.*, 2010, 2014). At the same time, oxidation mechanisms contribute to the formation of aldehydes such as methional, reminiscent of boiled potatoes, and phenylacetaldehyde, reminiscent of faded rose (Culleré, *et al.*, 2007). Their detection threshold in model wine solution was estimated to be 2.4 µg/L for methional and 30 µg/L for phenylacetaldehyde (Sarrazin *et al.*, 2007). Both these Strecker aldehydes are derived from the breakdown of two amino acids: methionine and phenylalanine (Grant-Preece *et al.*, 2013). The balance between varietal aroma and oxidative notes is of particular importance when evaluating the typicality of wine, *i.e.* the specific distinguishable sensory profile that is associated with the quality of a wine, such as for sweet botrytized Semillon wines (Sarrazin *et al.*, 2009), Riesling wines (Schüttler *et al.*, 2015) and Chardonnay (Parr *et al.*, 2010).

The quality of grapes and good winemaking practice are of great importance in preventing wine from aging too rapidly. However, endogenous and exogenous antioxidants such as sulfur dioxide (Oliveira *et al.*, 2020; Skouroumounis *et al.*, 2005), ascorbic acid (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2017) and glutathione (Pons *et al.*, 2015) are also known to protect the wine, *i.e.* to keep its freshness during bottle aging. Another method is to use stoppers with a low OTR. However, most of the studies investigating the impact of the OTR of the stopper on the evolution of the composition of white wines were based on OTR values provided by manufacturers (OTR<sub>T0</sub>) before bottling. High OTR<sub>T0</sub> are known to impact the composition of white wine during bottle aging, whatever the variety (Sauvignon blanc, Semillon, Riesling, Chardonnay), when dissolved carbon dioxide levels (DCO<sub>2</sub>), antioxidants (SO<sub>2</sub>, GSH, ascorbic acid), hydrogen sulfur and thiols decrease. On the contrary, Strecker aldehydes, sotolon and brownish color (OD<sub>420</sub>) increase (Brajkovich *et al.*, 2005; Lopes *et al.*, 2009; Pons *et al.*, 2021; Skouroumounis *et al.*, 2005; Ugliano *et al.*, 2011; Vidal *et al.*, 2017).

Therefore, according to the variety, geographical origin (appellation) and composition of a white wine, the impact of the stopper on its sensory evolution and composition is well known. However, to our knowledge, no data exist on the impact of the stopper type on the evolution of the composition of different Sauvignon blanc wines from the same appellation. How does the choice of stopper influence the evolution of different white wines during aging, while they develop a similar typicality and quality because they come from the same small appellation with high quality standards? In addition, we need to improve our understanding of the direct relationship between measured OTR and the composition of white wines after several years of bottle aging.

Experiment 1 sought to evaluate the impact of the stopper on the overall aroma balance and the aroma compound composition of 32 Sauvignon blanc wines from the Pessac Leognan appellation (2015 vintage). Experiment 2 studied the OTR distribution of a large range of aged stoppers (after 12 years of aging), including screw caps, natural and microagglomerate corks, synthetics, with a particular focus on their impact on the composition of a Sauvignon blanc wine and its sensory perception.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Reagents

3-Octanol (> 99 %), and dichloromethane (HPLC grade), methional, and phenylacetaldehyde (98 %) were from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Ultra-pure water was used in all sample preparations and model wines (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, USA). Anhydrous sodium sulfate (99 %) was supplied by Prolabo (Lyon, France). Ethanol (HPLC grade) was purchased from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). 3-sulfanyhexanol (3SH) (97 %), 2-furanmethanethiol (FFT) (99 %), 4-methyl-4-sulfanylpentane-2-one (4MSP) (95 %) was purchased from Interchim (Montlucon, France). Sulfur dioxide solution (100 g/L) was provided by Laffort (Bordeaux, France). 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN) was purchased from abcr GmbH (Karlsruhe, Germany).

### 2.2. Wine samples

#### 2.2.1. White wines from Pessac Leognan appellation (Exp. 1)

The first experiment (Exp 1) compared a large set of different wines from the same appellation. Thirty-two white wines were provided by different growths located in the Pessac Leognan appellation (2015 vintage, prices ranging from 15 to 160 € per bottle). This appellation has a varied terroir consisting of a mixture of gravel, clay, sand, and limestone of varying thickness. According to the appellation rules (INAO\_0000\_6075), the vines are planted with a minimum and a maximum of 6500 and 9000 vines per hectare, respectively, with a maximum yield of 48 hectolitres per hectare. The grapes are generally harvested by hand and fermentation and aging on lees are carried out in oak barrels. During maturation, depending on the winery, the wines are carefully protected from oxidation by using inert gas (N<sub>2</sub> or Ar) and sulfur dioxide. The 2015 vintage is considered as homogeneous and of a high quality, with little rain during the harvest and fine, moderately warm weather, allowing each plot to reach optimal ripeness (Geny & Dubourdieu, 2015). For this reason, no chaptalization or acidity correction were carried out by the winemakers. Bottling was conducted by each winery according to their own protocol, using their own commercially available stoppers. In our selection, we observed that the wineries used two types of stoppers from different producers: 18 were natural corks (NC) and the other 14 were microagglomerate corks (MA). The wines were stored horizontally in the dark in a temperature-controlled cellar at the winery. Samples were analysed in 2022.

### 2.2.2. Sauvignon blanc wines selected for OTR measurements (Exp. 2, Step 1)

The aged wine bottles (12 years old) were from three wineries from three appellations (Bordeaux, Graves, and Pessac Leognan). They corresponded to an experiment carried out in 2008 (2007 harvest) consisting in studying the impact of stopper type on the evolution of the composition of Sauvignon blanc wines. Choice of the wines, bottling conditions, and stopper type were described in detail by Pons *et al.*, (2021). Stoppers were selected according to the OTR<sub>T0</sub> proposed by the different manufacturers: from <0.1 to 4.6 mg/y, while natural cork stoppers (unknown OTR) corresponded to those used by the winery (Table S 12). In total, 88 samples were analysed, including 28 natural corks (NC) and 38 microagglomerate corks (12 Diam A, 15 Diam B, 11 Diam C), 11 moulded synthetic corks (Synt), 6 Saranex and 5 Saran-tin screw caps with known OTR<sub>T0</sub>.

### 2.2.3. Selection for sensory analysis of aroma compound composition (Exp 2, Step 2)

The second step in experiment 2 (Exp 2, Step 2) was carried out with 33 stoppers from Exp.1 Step 1 (Table 4) to study the impact of the measured OTR on the composition of the same Sauvignon blanc wine (100 %) from the Bordeaux appellation bottled in 2008 and not aged in oak wood. This wine corresponded to one of the three growths selected for OTR measurements. The white wine was bottled with seven types of stoppers (Table 5). The entire experiment, including winemaking and bottling protocols, was previously described in detail by Pons *et al.*, (2021). In brief, free SO<sub>2</sub> and ascorbic acid were adjusted to 25 mg/L and 50 mg/L, respectively, prior to bottling. In parallel, fill level, closure insertion depth and headspace pressure were checked and adjusted if necessary. Immediately after filling, the bottle headspace was purged with nitrogen. Dissolved oxygen (DO<sub>2</sub>) immediately after bottling was approximately 2.3 mg/L for the two screw caps and ~1.3 mg/L for the other closures. Two months after bottling, DO<sub>2</sub> reached 10 µg/L regardless of the closure.

**Table 4.** Type and characteristics of stoppers selected to seal the three Sauvignon blanc wines from Graves, Pessac Leognan and Bordeaux appellations accompanied by the number of analyses carried out for OTR<sub>12years</sub> measurements, chemical analysis (CA) and sensory analysis (SA) in experiment 2 (Exp. 2).

Stopper type	Code	Length (mm)	Diameter (mm)	OTR T <sub>0</sub> <sup>a</sup> (mg/year)	Number of sample analyzed <sup>c</sup>		
					Step 1	Step 2	Step 3
					OTR <sub>12years</sub>	OTR <sub>12years</sub> + CA	OTR <sub>12years</sub> +CA+SA
Screw caps	Saran	-	-	<0.1	5	3	2
	Saranex	-	-	0.5	6	2	2
Microagglomerate corks	Diam A	44	24.2	0.3	12	3	2
	Diam B	44	24.2	0.4	15	2	2
	Diam C	44	24.2	0.6	11	3	2
Synthetic	Synt	43	22.0	0.6	11	3	2
Natural cork	NC	45	24.0	Nd <sup>b</sup>	28	17	4

<sup>a</sup> OTR T<sub>0</sub> oxygen transfer rate provided by manufacturer (technical data sheet of the stopper). <sup>2</sup> nd: not determined, natural cork has a high intrinsic individual structural variability that makes extrapolation of OTR measurements impossible. <sup>c</sup> Analysis carried out on stoppers and wine samples from the different wineries according to the analytical step: step 1 included the three wineries; steps 2 and 3 were focused on the wine from Bordeaux appellation (in 2022). OTR<sub>12years</sub>: oxygen transfer rate measured after 12 years of aging. CA: Chemical analysis. SA: Sensory analysis.

### 2.3. OTR determination by coulometry

OTR measurements were performed in accordance with ASTM D1434-82 (2015) based on the protocol described by He *et al.*, (2013) in collaboration with the LNE (Trappes, France), using a Mocon Oxtran 2/48 (Moncon, Inc. USA). Prior to each series of measurements, the instrument was calibrated using the two-point method. The lowest point is zero obtained by testing a stainless-steel pipe. A NIST certified Mocon calibration film was used to set the highest point. Carrier gas was a N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> mixture (95/5, Messer, France) at constant flow (25 ml/min). According to the manufacturer's specifications, the instrument was set to measure the percentage of convergence to stop the analysis when two consecutive readings differed by less than 1 %, enabling a detection limit of 0.00001 cm<sup>3</sup>/day (~ 0.0522 ± 2 % mg/year). Temperature was recorded during the analysis and OTR was calculated automatically by the system software. The bottleneck was cut by using a Dremel® 4000 with a diamond blade (3.2 mm thickness). The glass edges were then smoothed and the top, including the closure, was glued to a metal plate using two-component epoxy glue. The system allowed the inner part of the bottleneck to be flushed by the carrier gas, whereas the outer part of the bottleneck was exposed to ambient air. During measurement, the closures were kept in humid conditions controlled by the instrument (80-90 % RH) and measured for external humidity (~50-60 % RH). Finally, each OTR measurement was broken down into three steps: the first for sample preparation, the second for conditioning on a degassing bench with continuous humid nitrogen flow (~90 % RH), and the third for measurement. OTR units are expressed in mg of oxygen per cap and per day.

## 2.4. Analysis of thiols and Strecker aldehydes by GC–MS/MS

### 2.4.1. Sample extraction by solid phase extraction (SPE)

The extraction protocol was described in Thibon *et al.* (2015). Briefly, 20 mL of wine sample were extracted by SPE consisting in a polystyrene-divinylbenzene hydrophobic polymer (Chromabond HR-X). Volatile compounds were eluted with 3 mL of the solvent mixture pentane/dichloromethane (50/50, v/v) and 3 mL of dichloromethane/methanol (95/5, v/v), and the final organic phase was dried with anhydrous sodium sulfate and concentrated to 150  $\mu$ L under a nitrogen stream.

### 2.4.2. Gas chromatography – mass spectrometry conditions

Samples were analysed using a chromatographic system comprising a Trace GC Ultra gas chromatograph (Thermo Electron SAS, Courtaboeuf, France) coupled to a TSQ Quantum XLS triple quadrupole mass spectrometer. GC separation was performed on a Macherey-Nagel (Germany) polar wax capillary column (polyethylene glycol, 50 m; 0.25 mm; 1  $\mu$ m). The autosampler (Triplus RSH autosampler) injected 1  $\mu$ L of sample into a split/splitless programmable temperature injector (closing time 1 min, split flow 30 mL/min) and was set as follows: 0.3 min at 200°C for 1 min and rising to 250°C at 14°C/min and held at this temperature for 10 min. The oven temperature was initially set at 45°C and held for 1 min, then increased to 250°C at 4°C/min and finally held at this temperature for 10 min. The temperature of the MS transfer line was set at 250°C. The source parameters including source temperature, electron energy, emission current and electron lens were set at 230°C, 25eV, 50  $\mu$ A and 100 V respectively. The collision gas was argon, and the mass spectrometer was operated in electron impact (EI) mode. The SRM conditions were optimised for each compound in terms of collision energy and gas pressure values applied to each precursor ion depending on the transition. Precursor ion ( $m/z$ ), product ion ( $m/z$ ) and collision energy (V) were selected as follows for compounds of interest: 3SH (134.0, 67, 5), 4MSP (132.0, 89.0, 10), FFT (114, 81, 5), phenylacetaldehyde (120.0, 91.0, 10), methional (104.0, 48.0, 10), and 3-octanol (101.0, 83.0, 10). Instrument set-up, data acquisition, and processing were performed using Xcalibur software (version 2.1.0). PFTBA (perfluorotri-*n*-butylamine) was used for mass calibration.

## 2.5. Quantification of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN)

### 2.5.1. Sample preparation and HS-SPME extraction

Based on Gök *et al.*, (2019), headspace–solid-phase microextraction (HS-SPME) was modified as follows. Briefly, 1 mL of wine sample and 9 mL of ultrapure water were placed in a 20 mL amber SPME vial containing 5 g ammonium sulfate, 5  $\mu$ L EDTA solution (60 g/L, H<sub>2</sub>O), and 10  $\mu$ L of the internal standard (IS, 5 mg/L 3-octanol, EtOH). The oxygen in the headspace of the vial was purged with carbon dioxide and the vial was sealed with a PTFE-lined cap. Using the Combi PAL autosampler (CTC Analytics, Zwingen, Switzerland), samples were incubated at 50 °C for 7 min prior to fibre extraction, followed by extraction for 30 min at 450 rpm. The fibre used was a divinylbenzene/carboxene/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, Supelco, Lyon, France).

### 2.5.2. Gas chromatography-mass spectrometry conditions

The fibre was desorbed into the injection port (240 °C, 10 min) of a CP3800 gas chromatograph coupled to an Agilent Technologies 4000 ion trap mass spectrometer. Splitless injection (2 min, 50 ml/min) was followed by separation on a BP20 column (60 m  $\times$  0.25 mm, 0.5  $\mu$ m film thickness, SGE), The carrier gas was helium (Air Liquide, Bordeaux) at a flow rate of 1.5 mL/min. The oven temperature was set at 45 °C (1 min hold) and increased to 200 °C at 4 °C/min followed by a ramp of 50 °C/min to 250 °C (5 min hold). The transfer line, trap, and manifold were maintained at 230 °C, 150 °C and 50 °C, respectively. The detection method was by electronic impact in full scan between 15 and 40 min. Quantification was performed with ion  $m/z$  83 (IS) and  $m/z$  157 (TDN).

## 2.6. Standard oenological parameters and dissolved carbon dioxide (DCO<sub>2</sub>)

For the first experiment, standard enological parameters including ethanol, residual sugar, total acidity, volatile acidity, pH were carried out by each wineries in collaboration their laboratories. These analysis were provided by each wineries. Unfortunately, they were not carried out after six years of aging.

Concerning the second experiment, free and total SO<sub>2</sub> were measured at the laboratory according to OIV protocols (2021). Absorbance at 420 nm, corresponding to yellow/brownish colour intensity, was measured with a Perkin Elmer Lambda 25 spectrophotometer. A Carbo-QC carbonation meter (Anton Paar GmbH, Graz, Austria) based on the multiple volume expansion method was used for the DCO<sub>2</sub> assay. Based on Pons *et al.* (2021), the bottle was opened (cap removed) and a 120 mL sample was carefully collected with a syringe to minimise degassing. Each measurement was performed in duplicate.

## 2.7. Sensory Analysis

All sensory analyses were carried out in a temperature-controlled tasting room (20 °C) equipped with individual booths. Wines (10 mL) were presented at 16–18 °C in black “XL5-type” tasting glasses (ISO 8589:2007) identified by random three-digit codes and covered with plastic lids. The glasses were chosen to avoid potential panel bias due to visual/taste interactions. Sample order was randomised and counterbalanced across panellists. All the white wines were tasted before being submitted to an expert in order to avoid any exogenous off-flavors such as TCA taints.

### 2.7.1. Monadic profiles

The 16 panellists had extensive experience in tasting Sauvignon blanc and were tasters (on average half men and half women) aged between 25 and 55 from the ISVV staff and from several Pessac Leognan wineries involved in this project. This resulted in an implicit consensus defining oxidation aromas (beeswax and cooked vegetables) and qualitative evolution defined as aging bouquet and terroir expectation associated with typicality. First, we asked the panel to evaluate several aroma descriptors of the 32 wines from the Pessac Leognan appellation such as "oxidation", "aging bouquet" and "typicity" on a 0 to 10 linear scale.

For the second experiment (Exp 2, Step 3) only, we also asked the panel to rate the “Sauvignon blanc” character instead of “typicity”, the “hedonic” level and the intensity of the "petroleum" character. For the latter, the tasters had to undergo training in order to be able to recognise and note the intensity of this character, which is generally associated with Riesling wines. This training was carried out in three different sessions: the learning session, the recognition session, and the intensity session.

### 2.7.2. Discrimination test

A triangle discrimination test (ISO 4120:2021) was used to discriminate between Diam A corks and Saran screw caps. Three glasses, two identical and one different, were presented to a panel of 18 judges made up of ISVV members trained in white Bordeaux wine tasting. This analysis was repeated twice, giving 36 answers cumulated.

## 2.8. Data Analysis

FIZZ software (Biosystemes, France) was used to generate the sample codes and collect the data for the sensory analysis of the monadic profiles using a tablet (FIZZ lab). Analysis of variance (ANOVA and correlation tests were applied to the sensory descriptive and analytical data with XLStat (Addinsoft, France). When the ANOVA result was significant ( $p < 0.05$ ), Duncan's or Dunn's post hoc tests were



used for comparison according to the results of the normality test (Kolmogorov-Smirnov). Groups were compared using the parametric Fisher test when the conditions of use were met, and the non-parametric Mann-Whitney test when the data set did not follow a normal distribution. The risk,  $\alpha$ , was set at 5 %. The interpretation of the triangle test results was based on a normal distribution with risk  $\alpha = 5\%$  and a probability of finding the correct sample at random of 1/3.

Principal Component Analysis (PCA) was used to identify patterns in the data set and highlight similarities and differences. Confidence ellipses were calculated with a 5 % risk for each group (Spad 8, Coheris, Paris).

### **3. Results and discussion**

#### **3.1. Impact of closure type on composition of several white wines within the same appellation after 6 years of aging**

Numerous studies have investigated the effect of closure on the evolution of white wines in bottle but to our knowledge, no study has investigated the effect of closure on the sensory and aromatic compound composition of several white wines from the same appellation.

##### **3.1.1. Selection of the wines and composition**

We selected 32 white wines from the Pessac-Leognan appellation from the 2015 vintage. They correspond to ~90 % of the wineries located in this small appellation which is well known for the overall quality of the white wines made, mainly with Sauvignon blanc (60 to 100 %) and Semillon (0 to 40 %) in the final blend with a smaller amount of Sauvignon gris (0 to 10 %) and Muscadelle (0 to 2 %). These high-quality white wines were mainly produced from Sauvignon blanc grapes using different techniques, with different grape qualities and maturities. We observed that the white wines provided by the winemakers were sealed with only two types of closure: natural corks (NC) and microagglomerate corks (MA). Table S 12 shows the composition of the wine just after bottling. It illustrates the wide range of composition of these wines linked to the maturity level, with ethanol concentrations ranged from 12.6 % vol. to 14.6 % vol. and total acidity levels ranging from 3.37 to 5.1 g/L  $\text{g/L H}_2\text{SO}_4$ , or sulfite management ( $5.0 \leq \text{free SO}_2 \leq 38.0 \text{ mg/L}$ ). The average level of free  $\text{SO}_2$  (26.3 mg/L) is consistent with what the average value recommended to be adjusted at bottling by professionals when the wine is well prepared. However, the minimum value of 5 mg/L at bottling (Table 8) is quite unusual and does not offer sufficient protection during bottle aging, for which the minimal threshold value is close to 10 mg/L (Sacks *et al.*, 2020).

### 3.1.2. Sensory and analytical evaluation of white wines from the same appellation after 6 years of aging

Sensory analysis, fine chemical analysis (thiols, Strecker aldehydes) and colour analysis (OD<sub>420</sub>) were carried out on these wines after six years of bottle aging (Table 5). The concentration of varietal thiols ranged from trace levels to more than 66 ng/L for 4MSP and 3000 ng/L for 3SH, which is well above the odor detection threshold of 0.8 ng/L and 60 ng/L, respectively. For Strecker aldehydes, methional and phenylacetaldehyde concentrations ranged from 0.73 µg/L to more than 30 µg/L and from almost 7 µg/L to more than 40 µg/L, respectively. These levels are consistent with those found in the literature, especially in oxidized white wines for the highest values. OD<sub>420</sub> ranged from 0.09 to 0.23 corresponding to "pale yellow" to a "golden yellow" associated with wines with a higher oxidation level (Peng *et al.*, 1999). Based on these preliminary observations, some aged white wines contained high level of thiols, low levels of Strecker aldehydes and low brownish intensity. On the other hand, other white wines from the same vintage were considered as oxidized. These results were as expected with white wines produced in different conditions, even though they all come from an appellation well known for the high overall quality of its white wines.

**Table 5.** Distribution of aroma compounds after six years of bottle aging of white wines from a same appellation.

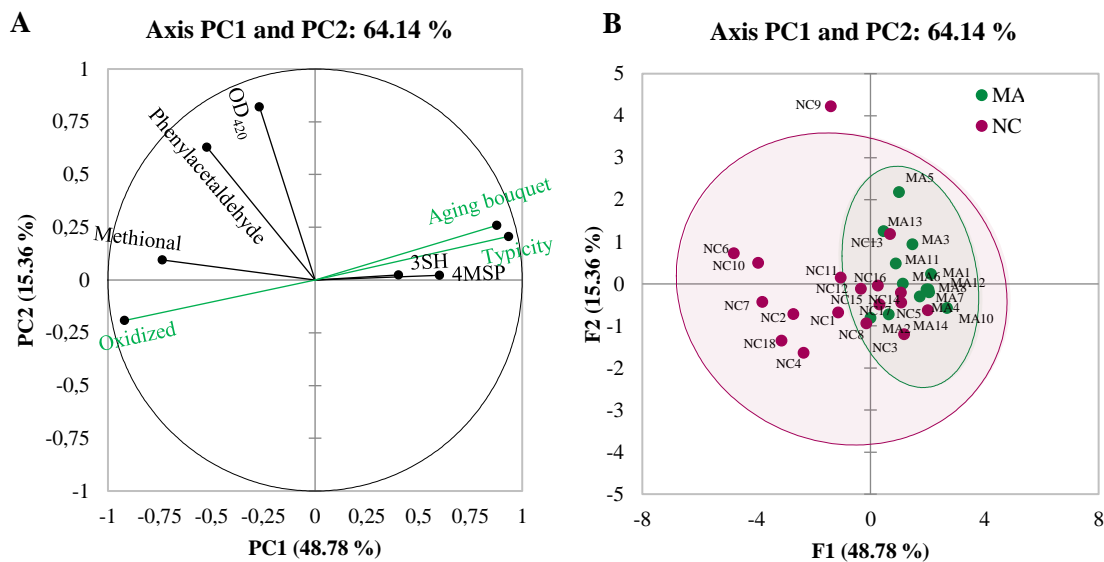
	<b>4MSP (ng/L)</b>	<b>3SH (ng/L)</b>	<b>Methional (µg/L)</b>	<b>Phenylacetaldehyde (µg/L)</b>	<b>OD<sub>420</sub></b>
Odor Detection threshold <sup>a</sup>	0.8	60.0	2.40	30.00	-
Average value <sup>b</sup>	14	810	5.24	13.35	0.14
Median	7	515	3.39	11.48	0.14
Standard deviation	15	846	6.45	7.60	0.04
Minimum value	tr	tr	0.73	7.11	0.09
Maximum value	66	3365	30.84	43.06	0.23

<sup>a</sup> In model solution (Tominaga *et al.*, 1998, 2003b). <sup>b</sup> n = 32. Tr = trace.

To explore further the sensory balance of the wines, we asked an expert jury (n = 16) to evaluate the intensity of typicality, oxidation level and aging bouquet. First, we validated the consensus of the jury to evaluate these descriptors thanks to a principal component analysis (PCA) of the evaluation score: the first two principal components (PC) accounted for 60.10 to 65.92 % of the total variance for each descriptor (Figure S 23). We showed that the responses of each judge were consistent and that they

reached a consensus. Therefore, they had a similar mental representation of what a good aged Sauvignon blanc wine from this appellation should be: a white wine with an evolving bouquet.

Next, a PCA was applied to the overall dataset including analytical and sensory data. The scores and loading plots are shown in Figure 16 A, B. The first two principal components (PC) accounted for 64.14 % of the total variance: 48.78 % for the horizontal axis (PC1) and 15.36 % for the vertical axis (PC2). Fine chemical markers, OD<sub>420</sub> and sensory evaluation were well structured in the space. The first axis (PC1) accounted for the intensity of oxidation, with the intensity of oxidation perception on the left and the intensity of Pessac Leognan typicity and qualitative evolution perception on the right. Chemical markers linked to oxidation and qualitative evolution followed the same trend with Strecker aldehydes represented on the left and varietal thiols on the right.



**Figure 16.** A: PCA biplot (PC1 vs PC2) of aroma compound composition and sensory descriptor intensity of 32 wine samples from the Pessac Leognan appellation (2015). In black analytical parameters, in green sensory descriptors. B: Score plot (PC1 vs PC2). Group 1 (in red, n = 18) corresponds to bottles sealed with natural corks (NC). Group 2 (in green, n = 13) corresponds to bottles sealed with microagglomerate corks (MA). The 95 % confidence ellipses were plotted for both groups.

Spearman's correlation analysis confirmed the statistically significant negative correlation between oxidation markers and typicity and aging bouquet, whereas the latter two were positively correlated to varietal thiols (Table 6). Surprisingly, the correlation coefficient between typicity and 3SH ( $r = 0.532$ ,  $p < 0.01$ ) and 4MSP ( $r = 0.539$ ,  $p < 0.01$ ) was not as high, very likely due to the absence of thiols in highly oxidized white wines. Significant correlations were obtained between Strecker aldehydes and oxidation

intensity (methional  $r = 0.437$ ,  $p < 0.05$ ; phenylacetaldehyde,  $r = 0.518$ ,  $p < 0.01$ ) and with typicality (methional vs typicality,  $r = -0.617$ ,  $p < 0.01$ ). These results confirm previous experiments reported in aged white wines (Pons *et al.*, 2021) and in controlled laboratory conditions (Ugliano *et al.*, 2011).

**Table 6.** Correlation coefficients obtained by Spearman test between molecular markers and sensory characters analysed in Pessac Leognan wines.

Variables	OD <sub>420</sub>	Methional	Phenylacetaldehyde	4MSP	3SH	Aging bouquet	Oxidized	Typicity
OD <sub>420</sub>	<b>1</b>	0.222	0.256	-0.126	-0.348	-0.123	0.330	-0.268
Methional		<b>1</b>	<b>0.592**</b>	-0.251	-0.208	-0.433*	0.437*	<b>-0.617**</b>
Phenylacetaldehyde			<b>1</b>	-0.351	-0.091	-0.300	<b>0.518**</b>	<b>-0.516**</b>
4MSP				<b>1</b>	0.421*	<b>0.489**</b>	<b>-0.580**</b>	<b>0.539**</b>
3SH					<b>1</b>	0.455*	<b>-0.491**</b>	<b>0.532**</b>
Aging bouquet						<b>1</b>	<b>-0.683**</b>	<b>0.762**</b>
Oxidized							<b>1</b>	<b>-0.800**</b>
Typicity								<b>1</b>

\* $P$ -value $<0.05$ . \*\* $P$ -value $<0.01$ . Bolded values correspond to a  $p$ -value  $<0.01$  (Spearman correlation test) ( $n = 32$ ).

However, after six years of bottle aging, OD<sub>420</sub> was not correlated with other oxidation parameters. Even though this result is quite unusual, as presented in Table 8, the highest OD<sub>420</sub> (0.23) was obtained in a sample marked by a strong oxidative evolution, with low thiol content (0.62 ng/L of 4MSP, 103.8 ng/L of 3SH), whereas methional and phenylacetaldehyde levels were detected above their detection threshold (4.08 µg/L for methional and 43.06 µg/L for phenylacetaldehyde).

The organization of wines in the PCA space gives an insight into the influence of the type of closure on the composition and sensory balance of white wines (Figure 16 B). The wines clustered according to their stopper type with two overlapping groups. The samples in the microagglomerate group had similar compositions compared to those sealed with natural cork stoppers. It is likely that some bottles of wine sealed with natural corks had a composition close to those sealed with microagglomerate stoppers, whereas others developed oxidative evolution.

### 3.1.3. Impact of stopper type on sensory balance and chemical composition of white wines from the same appellation after 6 years of aging

Based on these preliminary observations, we studied the distribution of the sensory results according to the type of stopper (Table 7). Large differences between the two types of closure were observed especially for sensory scores ( $p \leq 0.002$ ), 3SH ( $p = 0.01$ ) and 4MSP ( $p = 0.002$ ). After 6 years of aging, wines sealed with MA were considered less oxidised than NC ( $p < 0.0001$ ). Surprisingly, analytical

parameters associated with oxidative evolution, Strecker aldehydes and OD<sub>420</sub>, were not significantly different, even though a very high level of methional (30.84 µg/L) was detected in one sample sealed with NC. It is likely that the oxidative evolution perceived by the jury was in general much more associated with a loss of varietal expression than real oxidation. These results are consistent with the finding of a difference in oxygen transferred by natural corks compared to microagglomerate corks (Crouvisier-Urion *et al.*, 2018).

**Table 7.** Descriptive analysis and differences between distribution of quantification and sensory analysis results of Sauvignon blanc wines sealed with two types of stoppers: natural corks (NC, n = 14) and microagglomerate corks (MA, n = 18).

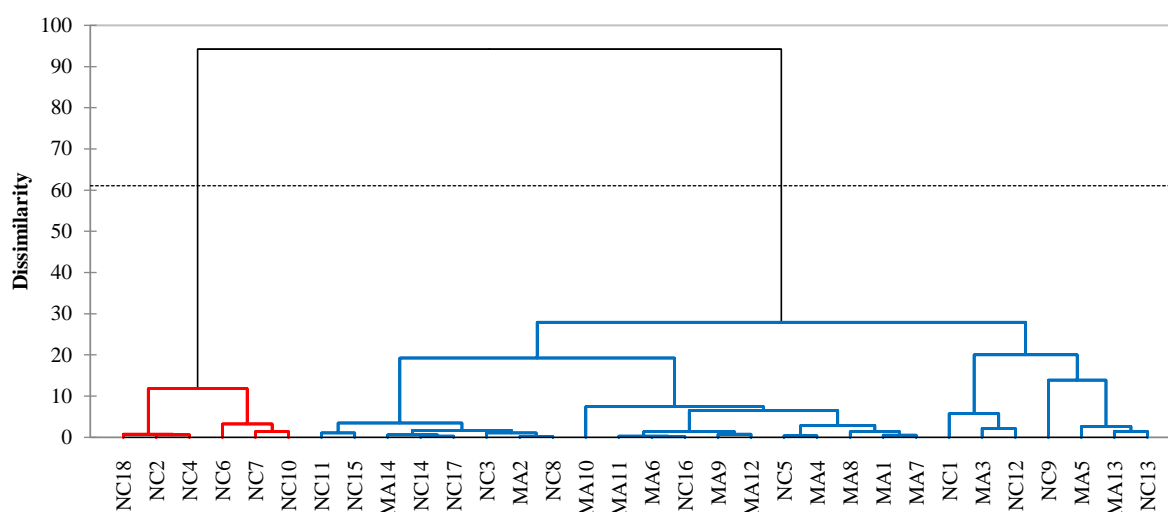
Variable	Stoppers	Average	SD	Min	Max	p value
OD <sub>420</sub>	MA	0.14	0.04	0.10	0.22	0.750
	NC	0.15	0.04	0.09	0.23	
Methional (µg/L)	MA	2.86	1.70	1.07	6.91	0.116
	NC	7.09	8.08	0.73	30.84	
Phenylacetaldehyde (µg/L)	MA	11.23	2.86	7.11	16.46	0.398
	NC	14.99	9.63	7.36	43.06	
4MSP (ng/L)	MA	24	16	tr	66	<b>0.002</b>
	NC	6	9	tr	30	
3SH (ng/L)	MA	1081	778	296	3048	<b>0.010</b>
	NC	599	857	tr	3365	
Aging bouquet	MA	5.70	0.51	4.89	6.56	<b>0.005</b>
	NC	4.70	0.91	3.41	6.11	
Oxidized	MA	2.11	0.54	1.22	3.22	<b>&lt;0.0001</b>
	NC	4.58	1.95	1.78	8.22	
Typicity	MA	6.74	0.64	5.67	8.11	<b>0.002</b>
	NC	4.86	1.80	2.00	7.33	

Significant differences evaluated with non-parametric Mann-Whitney test. In bold p value < 0.05. tr: Traces. Panellists: n = 16.

Clustering analysis is often used in chemistry to show and interpret similarities between objects or variables. The dendrogram of similarities is shown in Figure 17. Using a height cutoff of 0.7 for the dendrogram tree, the 32 samples were clearly divided into two groups (group 1 in red and group 2 in blue). As expected, group 2 (Ox) presenting a stronger oxidative evolution (along axis 1, as described in Figure 16) was exclusively composed of NC stoppers, whereas group 1 (non-Ox) contained both stopper types.

However, the composition of group 2 shows sample NC 18 (Table 8) that contained a low free SO<sub>2</sub> level just after bottling. SO<sub>2</sub> is used as an antioxidant to protect wine from rapid oxidative evolution, so it is not surprising to find this wine in the oxidative group. However, in this case, it was not due to the stopper but to the composition of the wine at bottling (Table S 12). Based on this observation, we examined the distribution of the composition of the wine after 6 years of bottle aging using free and total SO<sub>2</sub> after

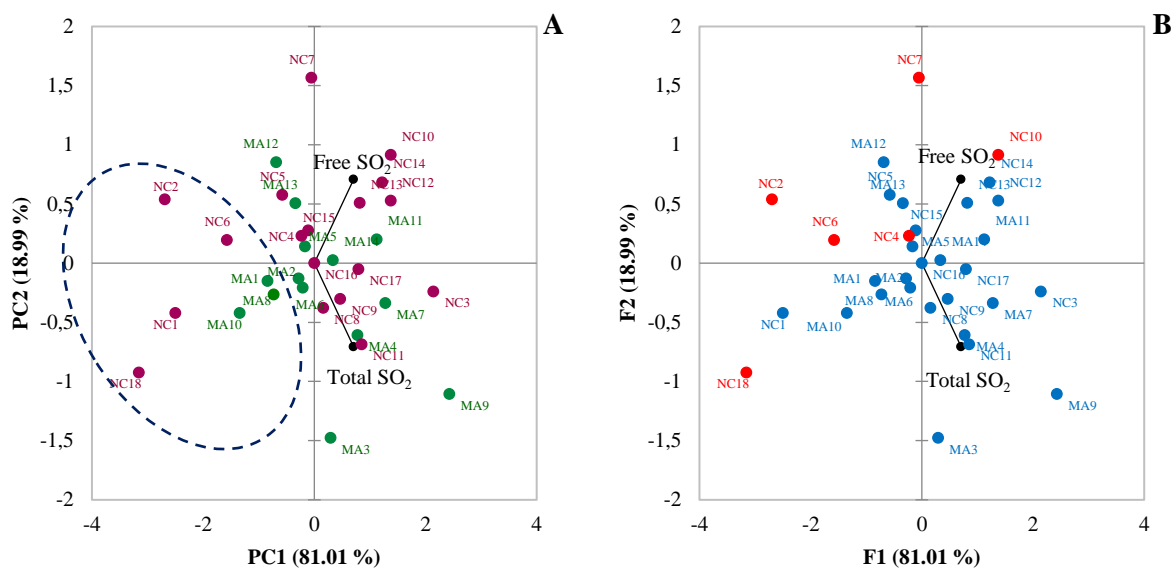
bottling (Figure 18). The right part of the PCA corresponds to a high content in total and free SO<sub>2</sub> whereas the left part corresponds to lower levels.



**Figure 17.** Dendrogram of similarities applied for the 32 wines of the Pessac Leognan appellation. Two groups were identified: G1 (blue) all with microagglomerate corks and some natural corks and G2 (red) composed exclusively of natural corks.

This graph clearly shows a group with low values of free and total SO<sub>2</sub> at bottling stands on the left, with 4 natural corks and 3 microagglomerated corks (Figure 18, A). The question then arises as to how these wines, which offer little protection against oxidation, will evolve after 6 years according to the stopper. Based on the groups defined by sensory and molecular characterisation of the wines, a new representation on the same PCA highlights the evolution of the wines according to the stopper and sulfite concentration at bottling (Figure 18, B). For wines with low free SO<sub>2</sub> levels at bottling, three to four natural corks were perceived as oxidized after six years of storage. The fourth (NC1) and wines with lower SO<sub>2</sub> levels (MA10, MA1, MA8) but sealed with microagglomerate corks showed no oxidative evolution. On the other hand, two samples with high free SO<sub>2</sub> levels (NC7: 34 mg/L and NC10: 38 mg/L) and one with a medium level (NC4: 20 mg/L) at bottling and sealed with natural cork developed an oxidative evolution (Figure 18, B).

Finally, these findings show that, in addition to the intrinsic quality and composition of a Sauvignon blanc wine, the type and quality of the cork are parameters to be taken into account when assessing the typicity associated with a geographical origin, an appellation and a terroir.



**Figure 18.** Illustration of the impact of sulfite content at bottling on the oxidative evolution of wines after 6 years of bottle aging. A: Score plot (PC1 vs PC2) of free and total SO<sub>2</sub> of 28 wine samples from the Pessac Leognan appellation (2015) after bottling according to stopper type (microagglomerate corks, MA, in green and natural corks, NC, in purple) B: Same score plot with different colours linked with composition of wines after 6 years of aging and clustering into two groups according to Figure 17. G1 (Ox, red) was composed exclusively by NC and G2 (Non-Ox, blue) with a mix of a few NC and MA.

**Table 8.** Examples of the highest and lowest concentrations of free and total SO<sub>2</sub> at bottling and the measurement of chemical markers and sensory evaluation of wines after 6 years of aging.

Sample	NC18	NC1	NC2	MA10	NC6	NC4	MA1	MA5	NC9	NC7	NC10
Free SO <sub>2</sub> (mg/L)	5	11	15	17	19	20	21	26	27	34	38
Total SO <sub>2</sub> (mg/L)	82	84	69	99	88	105	102	107	121	90	117
OD <sub>420</sub>	0.15	0.12	0.16	0.11	0.14	0.13	0.12	0.22	0.23	0.15	0.19
Methional (µg/L)	3.6	10.1	8.1	3.9	22.5	5.8	3.4	3.9	4.1	13.0	30.8
Phenylacetaldehyde (µg/L)	11.9	18.1	12.4	8.5	35.9	10.4	14.5	16.5	43.1	20.6	13.6
4MSP (ng/L)	tr	1	7	66	2	14	21	30	1	tr	tr
3SH (ng/L)	281	336	37	1304	153	378	1736	1854	104	215	tr
Oxidized	4.1	2.3	3.3	0.7	3.6	3.6	0.9	1.2	1.9	3.5	2.78
Aging bouquet	1.8	1.9	1.8	2.8	1.7	1.8	3.2	2.8	2.7	1.7	1.94
Typicity	1.0	2.2	1.7	3.5	1.2	1.4	3.6	3.1	3.1	1.1	1.67

tr: Traces. Panellists: n = 16.

## 3.2. OTR measurement of closures and composition and sensory perception of aged wines after 12 years of aging

This part (Exp.2) will be dedicated to the analysis of numerous old Sauvignon blanc wines in order to evaluate the impact of the OTR on their composition and sensory balance.

The first batch corresponded to the analysis of OTR from wines obtained from three wineries from three different appellations: Bordeaux, Graves, and Pessac Leognan (Step 1). The second part of the study investigated specifically OTR values obtained in Bordeaux wines, together with chemical (Step 2) and sensory analysis (Step 3). Two batches of natural cork called NC-S1 and NC-S2 were used in this part.

### 3.2.1. OTR of closures from aged wines (Exp.2, Step 1)

OTR of closures was assayed by coulometric method with a control of humidity during the desorption and measurement step. According to the literature, humidity is not always controlled when measuring OTRs (He *et al.*, 2013). However, according to Lagorce-Tachon *et al.* (2016), it should be controlled as it modifies the mechanical properties of the cork and the tightness of the stopper.

We applied the method to determine the OTR of a wide sample selection including 88 12-year-old closures of four types: screw caps, microagglomerate, synthetic and natural corks (Table 4). As depicted in Table 9, after 12 years of bottle aging, the OTRs of our selection ranged from 0.05 to 89.11 mg/y. The lowest values were obtained with tin-lined Saran screw caps and the highest values with the natural cork family, which had the widest range of values (0.12 to 89.11 mg/year). These results are consistent with those obtained by Crouvisier-Urien *et al.*, (2018) on young cork closures. Our data set and the wide range of OTR values showed that there were significant differences between two groups, Saran screw caps and Diam A on one side and natural cork and Diam C on the other side.

One could carefully compare these values with those provided by the manufacturers and obtained with different analytical techniques having different performances. Nevertheless, it is useful to understand the general trend of the evolution of closure performance.

First, the ranking of the stopper and closure type according to their  $OTR_{T0}$  is consistent with the average OTR after 12 years of aging. In addition, with Saran screw caps and Diam A microagglomerate corks, OTR was quite stable after 12 years of aging:  $0.11 (\pm 0.03)$  mg/year and  $0.74 (\pm 0.56)$  mg/year, respectively. For Saranex, the surprisingly high value might be due to mechanical damage on the surface of the screwcap during aging. Microagglomerate stoppers seem to have stable mechanical properties over time. On the other hand, stoppers with a high  $OTR_{T0}$  tend to have a higher  $OTR_{12years}$ , probably due to quicker material fatigue accompanied by an increase in the oxygen transfer across the interface



(Chanut *et al.*, 2021). Synthetic corks (Synt) had a high OTR<sub>T0</sub> (0.6 mg/year) similar to that of Diam C, and it remained high for 12 years (OTR<sub>12years</sub> = 0.86 ± 0.40 mg/year).

**Table 9.** Characteristics of stoppers provided by different manufacturers and OTR of different closures determined by coulometry after 12 years of storage (OTR<sub>12years</sub>).

Stopper type	Code	OTR <sub>12years</sub> (mg/year) <sup>a</sup>					Groups
		Average	SD	Median	Min	Max	
Screw caps	Saran	0.11	0.03	0.11	0.05	0.14	a
	Saranex	9.58	14.67	0.23	0.11	31.47	abcd
Microagglomerate corks	Diam A	0.74	0.56	0.78	0.11	1.64	ab
	Diam B	4.09	3.54	3.20	0.11	11.63	bcd
	Diam C	6.17	5.73	4.57	0.61	20.94	d
Synthetic	Synt	0.86	0.40	0.61	0.38	1.66	abc
Natural corks	NC	15.07	26.19	3.05	0.12	89.11	cd

<sup>a</sup> Experimental OTR values by coulometry with Mocon OX-TRAN Model 2/48. <sup>b</sup> Blend of NC from three different suppliers and wineries. Different letters correspond to significantly different groups based on log (OTR<sub>12years</sub>), which is assumed to have a normal distribution (ANOVA, post hoc Tukey test).

To our knowledge, this is the first time that the OTR of old closures has been determined over such a wide range of old stoppers. Beyond the OTR values reported in this study, it is also important to bear in mind that this analysis gives an overview of the state of the closure at a given moment. It was not possible to determine the evolution kinetics of OTR, especially for natural corks, some of which presented high OTR<sub>T0</sub> and others a high OTR after several years of aging due to a decrease in their mechanical properties. Based on these findings, we investigated the influence of the OTR level of the closure measured after 12 years of bottle aging on the evolution of the composition of a Sauvignon blanc wine by sensory evaluation and quantification of molecular markers.

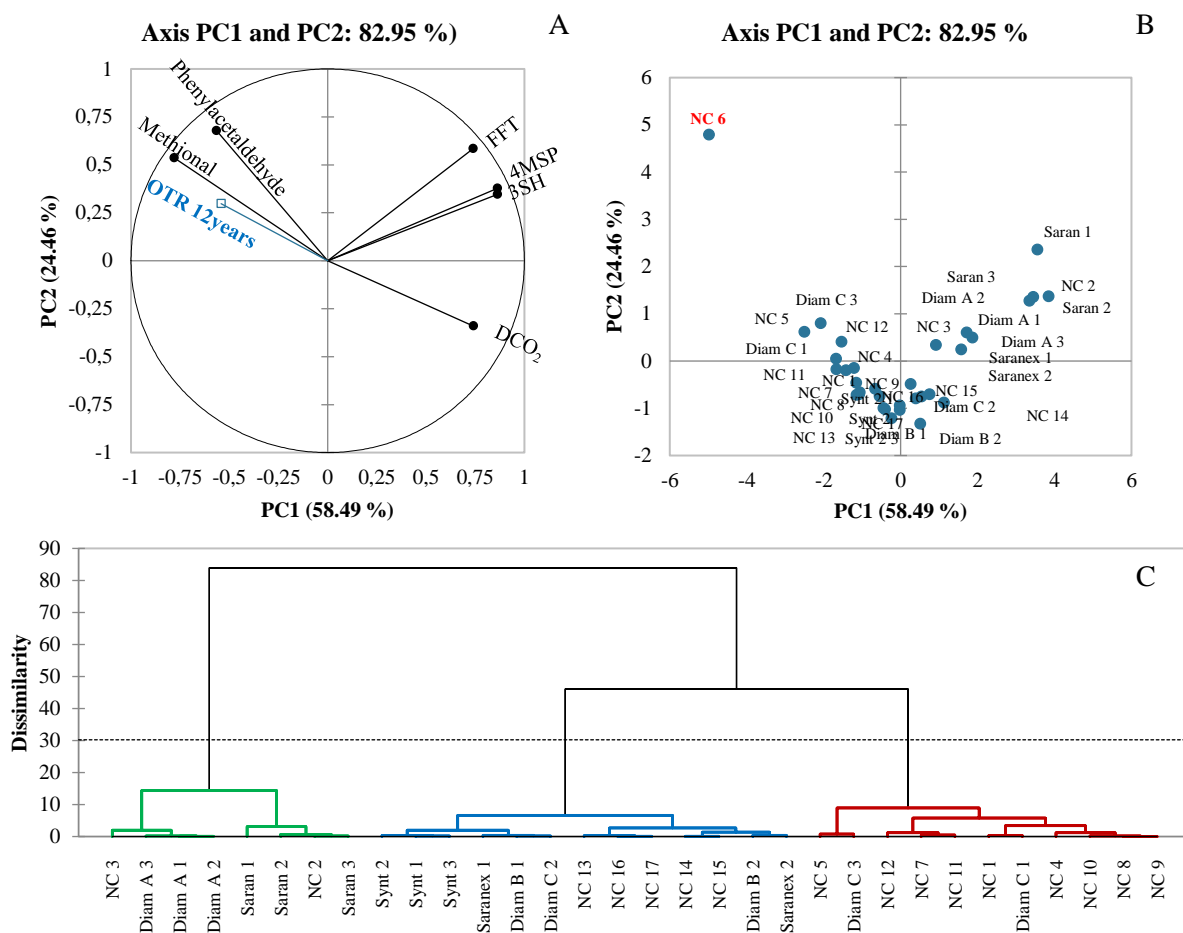
### 3.2.2. Assay of OTR<sub>12years</sub> for different closures and impact on chemical composition of a Sauvignon blanc wine (Exp.2, Step 2)

Some samples characterised in the previous part (Exp.2, Step 1) were also submitted to chemical analysis to evaluate the impact of OTR<sub>12years</sub> on the composition of wine (Table S 13). The analyses were carried out on the Sauvignon blanc from the Bordeaux appellation not aged in oak wood and sealed with the same stoppers as in Exp 2. Step 1. In total, 33 samples were selected (Table 4). For each bottle, OTR was measured and several analytical parameters were quantified, including varietal aromas (3SH, 4MSP), FFT (roasted coffee nuance involved in reduction bouquet), Strecker aldehydes (methional,

phenylacetaldehyde) OD<sub>420</sub> and DCO<sub>2</sub>, and free and total SO<sub>2</sub> (Table S 14). Free SO<sub>2</sub> was also quantified, but whatever the closure the values were very low, below 5 mg/L. For that reason, the values were not reported and used in this part of the study. The OTR<sub>12years</sub> values obtained in this stopper selection ranged from 0.16 to 59.46 mg/year, suggesting a wide range of chemical composition.

Thiols were detected at the following concentrations: tr-14 ng/L for 4MSP, 18-985 ng/L for 3SH, and tr-59 ng/L for FFT. Methional and phenylacetaldehyde concentrations were in the 0.4-110.9 µg/L and 0.9-378.0 µg/L range, respectively. At the highest concentrations, they contribute to the aroma of wine after 12 years of aging. DCO<sub>2</sub> levels ranged from 0.13 to 0.61 g/L. The concentration range of these markers was consistent with the results obtained in a previous study conducted with the same experimental protocol (Pons *et al.*, 2021). As expected, primary evaluation of the overall data set indicated that thiols and Strecker aldehydes had opposite trends.

To summarise these trends, PCA was applied on the overall data set in Figure 19. The first two principal components accounted for 82.95 % of the total variance: 58.49 % for axis 1 and 24.46 % for axis 2. There are two groups of parameters on the first axis according to oxidation intensity. The molecular markers known to correlate with oxidation (methional and phenylacetaldehyde) are represented on the left side of the PCA. The OTR values of closures measured after 12 years of aging, considered as supplementary variable, are plotted on the same side of the PCA as the oxidation markers. Varietal thiols and DCO<sub>2</sub> are on the opposite side.



**Figure 19.** A: PCA biplot of aroma compound composition and OTR<sub>12years</sub> values for a Sauvignon blanc wine sealed with different stoppers. B: Score plots of PCA on aroma compound composition. OTR<sub>12years</sub> are considered as supplementary variables. C: Cluster dendrogram of overall analytical data set obtained for the Sauvignon blanc wine from Bordeaux sealed with seven different stoppers after 12 years of bottle aging (without NC 6). Sample names are indicated by stopper abbreviation followed by replicate number. Three groups were identified: G1 (green); G2 (blue) and G3 (red).

A Spearman correlation test (Table 10) revealed a correlation between OTR measurements and Strecker aldehydes: 0.835 ( $p < 0.01$ ) and 0.789 ( $p < 0.01$ ) for methional and phenylacetaldehyde, respectively. In addition, OTR<sub>12y</sub> was correlated negatively with 3SH (-0.707,  $p < 0.01$ ), 4MSP (-0.788,  $p < 0.01$ ), FFT (-0.364,  $p < 0.05$ ) and DCO<sub>2</sub> (-0.745,  $p < 0.01$ ). Conversely, the most oxidized samples that contained the highest Strecker aldehyde concentrations and lowest thiol and DCO<sub>2</sub> values were NC6, with an OTR close to 35 mg/year (Figure 19 B). However, this OTR value was not the highest that we found. It is likely that the OTR of this stopper had been very high since the beginning of this experiment, whereas

the OTR of the other natural cork stoppers increased slowly during bottle aging. In other words, it was the chemical analysis that revealed the evolution, not the OTR. This outlier (NC 6) was removed from the rest of our data analysis.

**Table 10.** Correlation coefficient obtained by Spearman test between molecular markers and OTR values of different stopper types.

Variable	OTR 12years	4MSP	3SH	FFT	Methional	Phenylacetaldehyde	DCO <sub>2</sub>
OTR <sub>12years</sub>	<b>1</b>	<b>-0.707**</b>	<b>-0.788**</b>	-0.364*	<b>0.835**</b>	<b>0.729**</b>	<b>-0.745**</b>
4MSP		<b>1</b>	<b>0.810**</b>	<b>0.544**</b>	<b>-0.759**</b>	<b>-0.763**</b>	<b>0.555**</b>
3SH			<b>1</b>	<b>0.621**</b>	<b>-0.795**</b>	<b>-0.740**</b>	<b>0.578**</b>
FFT				<b>1</b>	<b>-0.361**</b>	-0.388*	0.009
Methional					<b>1</b>	<b>0.936**</b>	<b>-0.716**</b>
Phenylacetaldehyde						<b>1</b>	<b>-0.554**</b>
DCO <sub>2</sub>							<b>1</b>

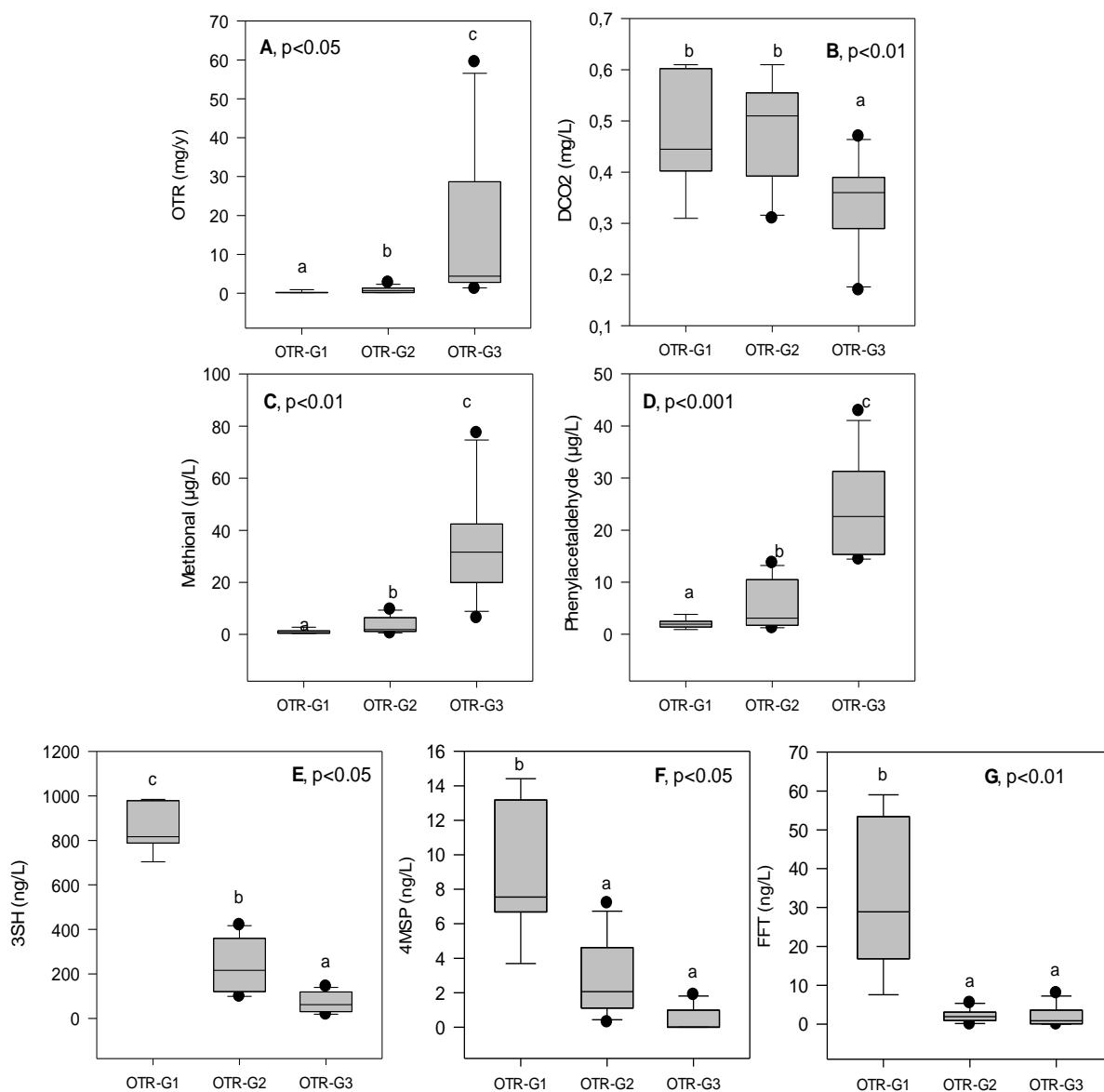
\**P*-value<0.05. \*\* *P*-value<0.01 were in bold. n = 32.

Next, hierarchical clustering analysis was carried out on the overall data set except OTR<sub>12years</sub> values, which were considered as a supplementary variable (Figure 20 C). The goal was to cluster the OTR<sub>12years</sub> data based on the molecular composition of the white wines after 12 years of aging. The dendrogram shows classifications based on distances between samples and groups. Three groups can be established: G1, G2 and G3. The first group (in green, OTR<sub>average</sub> = 0.27 ± 0.27 mg/year) includes wines sealed with screwcaps Saran, Diam A microagglomerate corks and two natural corks with OTR<sub>12years</sub> in the 0.26 to 0.95 mg/year range. This group is situated on the right of the PCA and correlates with low oxidative evolution (Figure 20 B). The second group (in blue, OTR<sub>average</sub> = 0.82 ± 0.76 mg/year) corresponds to closures with an OTR<sub>12years</sub> ranging from 0.16 to 2.71 mg/year. This group includes synthetic corks with stable but high OTR<sub>12years</sub> values since the beginning of bottle aging, as well as Diam B and Diam C microagglomerate corks with low OTR, and the Saranex screwcap. The last group (in red, OTR<sub>average</sub> = 14.73 ± 20.29 mg/year) includes natural corks and Diam C with OTRs ranging from 1.2 to 59.46 mg/year. The wide range of values with the same effect may seem surprising. However, it is important to bear in mind that our analytical approach summarizes the composition of the wine but does not provide a kinetic. This means that a closure with an OTR<sub>12years</sub> of 1.2 mg/year for 12 years will have a similar impact on the wine composition than a closure with a very low OTR for nine years and an OTR of 12 mg/year for one year.

To evaluate the significant differences between the three groups, a log transformation of the raw data was applied to fulfil the normality and the equality of variance necessary to apply an ANOVA. Thanks to this transformation, we found that the OTR<sub>12years</sub> range clustered into three groups with significant differences in their distribution (Figure 20).

The first group (G1) differed significantly from the other two groups in terms of varietal thiols (Figure 20, E and F,  $p < 0.05$ ) and FFT concentration ( $p < 0.01$ ). This illustrates the strong reactivity of these compounds when oxygen and oxidation phenomena occur during bottle aging. On the other hand, the high OTR value group (G3) contained significantly more Strecker aldehydes (Figure 20, C,  $p < 0.01$  and D,  $p < 0.001$ ) and lower  $\text{DCO}_2$  ( $p < 0.01$ ) concentrations than the other two groups. Therefore, based on these findings, it seems that after 12 years of bottle aging, the  $\text{OTR}_{12\text{years}}$  of closures shows that an  $\text{OTR}_{\text{average}} \sim 0.27$  mg/year is sufficient to maintain a high thiol content in the wine while delaying the formation of oxidative by-products and around 0.8 mg/year, the first signs of oxidation were observed.

During bottle storage, incoming oxygen rapidly reacts with phenolic compounds, triggering a cascade of chemical reactions that lead to the trapping of varietal thiols with an increasing reactivity kinetic  $3\text{SH} < 4\text{MSP} < \text{FFT}$  (Nikolantonaki *et al.*, 2010). As a result, the addition of large amounts of oxygen to the wine initially leads to a rapid reduction in thiols in the wines down to trace levels, as observed here. In parallel, the chemical mechanisms involved in the trapping or degradation of thiols is accompanied by an increase in the formation of Strecker aldehydes. An oxidative reaction takes place in wines according to a hierarchy of mechanisms described previously (Monforte *et al.*, 2019; Nikolantonaki & Waterhouse, 2012), with antioxidants,  $\text{H}_2\text{S}$ , thiols and the synthesis of compounds such as Strecker aldehydes being the preferential mechanisms.



**Figure 20.** Distribution of analytical parameters according to clustering of data in three different groups: G1 ( $OTR_{12years} = 0.27 \pm 0.27$ ,  $n=12$ ), G2 ( $OTR_{12years} = 0.82 \pm 0.76$ ,  $n=12$ ) and G3 ( $OTR_{12years} = 14.73 \pm 20.29$ ,  $n=8$ ): A: OTR, B:  $DCO_2$ , C: methional, D: phenylacetaldehyde, E: 3SH, F: 4MSP, G: FFT. Different letters correspond to significant different groups (ANOVA, post hoc Tukey test). Horizontal line corresponds to median value of distribution.

### 3.2.3. Impact of OTR level after 12 years of bottle aging on sensory and chemical composition of a white wine sealed with various stopper types (Exp 2, Step 3)

The last part of this study, including sensory analysis and supplementary analytical data was carried out on a Sauvignon blanc wine from the Bordeaux appellation with a smaller selection of stoppers (n=20). It includes five screw caps, eight microagglomerate and four natural corks and three synthetic stoppers (Table S 13) having very low and very high OTR<sub>12y.</sub>, (from 0.16 to 59.46 mg/year) as depicted in Table S 14. Sensory analysis was also carried out with a range of descriptors including oxidation, aging bouquet and intensity of the Sauvignon blanc character.

The overall data set (Figure 21) was analysed by principal component analysis. The PCA obtained with PC1 and PC2 explained 81.17 % of the total variance, with PC1 and PC2 explaining 63.94 % and 17.23 % of the total variance, respectively. Projection of variables shows that the horizontal axis illustrates the oxidative evolution of the wine samples. The results, including new sensory data and total SO<sub>2</sub> levels, are in total agreement with the previous data set (Figure 21). High OTR induced a decrease in thiols and total SO<sub>2</sub> as well as the formation of Strecker aldehydes and finally the modification of the sensory balance of the wine: from fresh fruity aromas to overwhelming odors associated with oxidative evolution. In addition, aging bouquet and hedonic characters were correlated with varietal thiols and FFT.

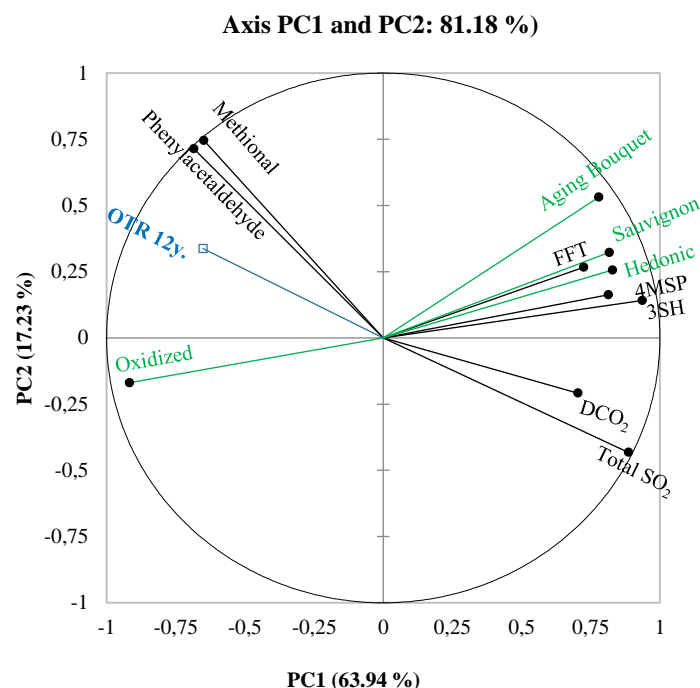
Table 11 shows a Spearman's correlation matrix for this data set to compare analytical and sensory results. After 12 years of aging, there was significant strong correlation for some of them. For example, the strongest correlation (absolute value) for the Sauvignon descriptor was with 3SH ( $r = 0.749$ ,  $p < 0.01$ ) and OTR<sub>12years</sub> ( $r = -0.639$ ,  $p < 0.01$ ). For oxidation it was OTR<sub>12years</sub> ( $r = 0.716$ ,  $p < 0.01$ ) and 3SH ( $r = -0.898$ ,  $p < 0.01$ ). Strong correlations for aging bouquet were also obtained with 3SH ( $r = 0.777$ ,  $p < 0.01$ ) and OTR<sub>12years</sub> ( $r = -0.537$ ,  $p < 0.01$ ) whereas 3SH ( $r = 0.780$ ,  $p < 0.01$ ) and OTR<sub>12years</sub> ( $r = -0.632$ ,  $p < 0.01$ ) correlated strongly with the hedonic perception of these aged white wines. Of course, an increase in Strecker aldehydes was associated with a significant increase in oxidation level (methional  $r = 0.63$ ,  $p < 0.01$ ; phenylacetaldehyde  $r = 0.44$ ,  $p < 0.05$ ) accompanied by a significant lower total SO<sub>2</sub> concentration ( $r = -0.809$ ,  $p < 0.01$ ). The OTR level of the closure after 12 years of aging is of particular importance when studying the composition and sensory balance of a Sauvignon blanc wine.

**Table 11.** Correlation coefficient obtained by Spearman test between molecular markers and OTR measurement and sensory characters of a Sauvignon blanc wine sealed with different stopper types.

Variables	OTR 12years	4MSP	3SH	FFT	Methional	Phenylacetaldehyde	DCO <sub>2</sub>	Total SO <sub>2</sub>	Descriptors			
									Sauvignon	Oxidized	Aging Bouquet	Hedonic
OTR <sub>12years</sub>	<b>1</b>	<b>-0.629**</b>	<b>-0.662**</b>	-0.342	<b>0.672**</b>	0.545*	<b>-0.710**</b>	<b>-0.809**</b>	<b>-0.639**</b>	<b>0.716**</b>	<b>-0.537*</b>	<b>-0.632**</b>
4MSP		<b>1</b>	<b>0.826**</b>	<b>0.725**</b>	<b>-0.629**</b>	-0.498*	0.524*	<b>0.821**</b>	<b>0.588**</b>	<b>-0.752**</b>	<b>0.654**</b>	0.498*
3SH			<b>1</b>	<b>0.765**</b>	<b>-0.639**</b>	-0.432	<b>0.602**</b>	<b>0.843**</b>	<b>0.749**</b>	<b>-0.898**</b>	<b>0.777**</b>	<b>0.780**</b>
FFT				<b>1</b>	-0.415	-0.205	0.201	<b>0.614**</b>	0.559*	<b>-0.626**</b>	<b>0.756**</b>	0.535*
Methional					<b>1</b>	<b>0.904**</b>	<b>-0.753**</b>	<b>-0.779**</b>	-0.520*	<b>0.630**</b>	-0.451*	-0.508*
Phenylacetaldehyde						<b>1</b>	<b>-0.579**</b>	<b>-0.617**</b>	-0.337	0.463*	-0.191	-0.364
DCO <sub>2</sub>							<b>1</b>	<b>0.585**</b>	0.431	-0.541*	0.455*	0.496*
Total SO <sub>2</sub>								<b>1</b>	<b>0.745**</b>	<b>-0.873**</b>	<b>0.617**</b>	<b>0.659**</b>
Sauvignon									<b>1</b>	<b>-0.838**</b>	<b>0.820**</b>	<b>0.836**</b>
Oxidized										<b>1</b>	<b>-0.711**</b>	<b>-0.823**</b>
Aging Bouquet											<b>1</b>	<b>0.678**</b>
Hedonic												<b>1</b>

\**P-value*<0.05. \*\* *P-value*<0.01. Values in bold correspond to a *p-value* <0.01 (Spearman correlation test).





**Figure 21.** PCA diagram of first two principal components of analytical parameters (black): sensory evaluation (green) and OTR<sub>12years</sub> values (supplementary variable in blue) of a Sauvignon blanc wine sealed with different stoppers.

### 3.3. Impact of stopper type on specific aroma evolution: the case of petroleum character

We demonstrated that the closures belonging to group G1 with low OTR<sub>12years</sub> enabled the wine to develop similar chemical and sensory evolution, on the basis of well-known chemical markers (volatile thiols and Strecker aldehydes). We also analysed the intensity of descriptors commonly used to study the evolution of Sauvignon blanc wines (Figure 19 C). In the last part of this study, we focused our attention on two closure systems, Saran screwcap and Diam A, found in the group G1, with the analytical parameters described in Table S 13.

To explore these slight differences in detail, we discriminated the samples using a triangular test (Table S 15). As these two stoppers gave consistent reproducible results in terms of composition, one bottle of each category was analysed. The analysis enabled us to obtain 36 cumulative responses from two repetitions of the analysis carried out by 18 judges on two different days. The test is considered significant if the results are greater than 0.33, which is the probability of finding the correct answer by chance. In our case, the test result is 0.972, which corresponds to 97.2 % of correct answers, indicating a highly significant difference ( $p < 0.001$ ), confirming the sensory difference between the two wine

samples due to different stopper types. It is likely that apart from the OTR level, the use of a screw cap or microagglomerate cork seems to affect the aroma development of a Sauvignon wine.

During the preparation of the tasting, some tasters identified specific descriptors in the wine sealed with the screw cap that were reminiscent of "chemical" notes associated with "paraffin" and "petroleum". These descriptors correspond to those used to describe old Riesling wines and which are due to a high level of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN), a well-known norisoprenoid (Tarasov *et al.*, 2019).

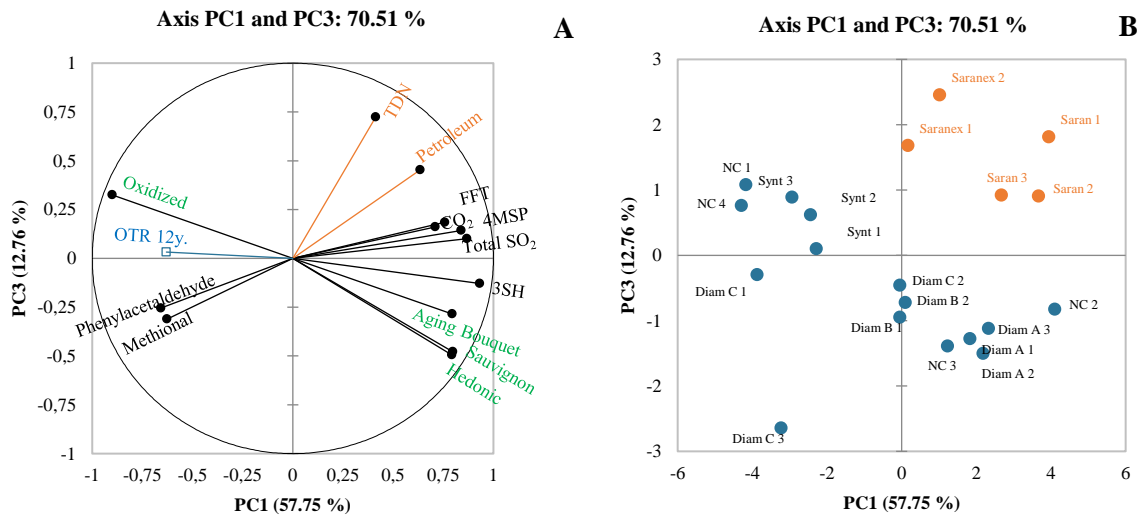
TDN is associated with the specific petrol character of old Riesling owing to its presence in very high amounts (250 µg/L). According to Tarasov *et al.* (2020), the odor detection threshold is 4 µg/L) whereas the recognition threshold in Riesling wine is 10 µg/L. This compound has been found in concentrations close to the detection threshold in other grape varieties such as Chardonnay and Sauvignon blanc (Schneider, 2016) and contributes to the development of the typical Riesling character. Its level increases during bottle aging and it comes from the dehydration of carotenoids (Mendes-Pinto, 2009; Winterhalter *et al.*, 1990).

Based on these preliminary observations, we extended our investigation to the other microagglomerate (Diam B and C) and synthetic stoppers (NC, Synt). We asked the panel to rate the character on a 0 to 10 scale, whereas TDN was quantified in the wine samples sealed with the four different closure type (Table S 16). The highest concentrations were obtained in samples sealed with screwcaps (6.74 µg/L) and the lowest in those sealed with a synthetic stopper (0.45 µg/L). The highest level was higher than the odor detection threshold. The two capsules used in this study had similar TDN levels and were also perceived in general to be the most petroleum-rich.

Figure 20 shows that PC1 vs. PC3 gave the best representation of TDN level and the petroleum character. The vertical PC1 accounts for 57.75 % of the variance, whereas the horizontal PC3 axis accounts for 12.76 % and allows the variables and data to be plotted in the entire two-dimensional plane. In these two plots, the samples marked by the petroleum character and containing the highest level of TDN were located in the same part of the plane. A Pearson correlation test showed a positive correlation between these two variables ( $r = 0.78$ ,  $p < 0.01$ ). The highest concentrations were found in a sample sealed with a Saran screwcap.

The white wine was bottled and stored in similar conditions for 12 years, so any differences between the samples could be attributed to the closure. Having demonstrated that the two closures have similar OTR, the differences can be explained by the TDN concentrations. TDN is known to be adsorbed onto the surface of the material used to seal the wine, preferentially synthetic material, whereas the layer used to make the screwcap cannot adsorb it (De La Burgade *et al.*, 2023; Tarasov *et al.*, 2019). We now demonstrate that this phenomenon, observed in old Riesling wines, can also occur in aged Sauvignon blanc wines, revealing high levels of TDN in wines sealed with screw caps. Indeed, this untypical

aromatic note found in Sauvignon blanc wines sealed with screw caps might lead consumers to associate them with old Riesling wines.



**Figure 22.** PCA biplot of OTR<sub>12years</sub> values (supplementary variable in blue), aroma compound composition and sensory descriptor intensity (green except petroleum) of a Sauvignon blanc wine sealed with seven different stopper types. TDN and petroleum intensity in orange. Score plots of PCA of OTR values, aroma compound composition and sensory descriptor intensity with samples with screwcaps in orange.

## 4. Conclusion

Ce chapitre est consacré à l'étude de l'impact du bouchon sur la composition moléculaire et l'arôme des vins élaborés à partir du cépage sauvignon blanc.

Dans une première étude, nous avons mis en évidence l'impact du type de bouchon sur l'évolution des vins d'une même appellation (Pessac Léognan) tout en soulignant l'importance de la préparation de ces derniers à la mise en bouteille, en lien avec la teneur en SO<sub>2</sub> libre. Après 6 ans de conservation, nous montrons que l'utilisation de bouchons en liège microaggloméré semble prévenir le vin, quel que soit le cru, d'une évolution prématurée et ce en dépit d'une teneur initiale en SO<sub>2</sub> libre faible.

Par la suite nous avons poursuivi nos investigations en s'appuyant sur des travaux lancés en 2008 portant sur l'étude de l'impact de l'obturbateur sur l'évolution de trois vins blancs de sauvignon issus de trois appellations de Bordeaux. Après 12 ans de conservation, nous avons procédé à la caractérisation de l'OTR de l'ensemble de ces bouteilles de vin. Nous avons complété cette approche par l'évaluation de la composition moléculaire et sensorielle de l'un d'entre eux.

Nous mettons en évidence une large gamme dans les valeurs d'OTR<sub>12ans</sub> des bouchons après vieillissement comprise entre 0,05 mg/an et 89,11 mg/an. Les valeurs les plus faibles correspondent aux capsules Saran film étain alors que les valeurs les plus élevées reviennent à certains bouchons en liège naturel. Les bouchons en liège technique ayant un faible OTR<sub>T0</sub> à la mise en bouteille présentent également un niveau d'OTR faible après 12 ans (OTR<sub>12ans</sub>) avec une faible variabilité. Il est à noter que le bouchon synthétique sélectionné dans le cadre de ce projet présente une valeur d'OTR<sub>T0</sub> moyenne et stable après 12 ans de conservation.

L'analyse chimique des vins a permis de structurer cette gamme d'OTR<sub>12ans</sub> en trois groupes : G1 (OTR<sub>12ans</sub> = 0,27 ± 0,27 mg/an), G2 (OTR<sub>12ans</sub> = 0,82 ± 0,76 mg/an) and G3 (OTR<sub>12ans</sub> = 14,73 ± 20,29 mg/an). Ces valeurs sont bien corrélées aux teneurs en DCO<sub>2</sub> ainsi qu'en thiols volatils associés à la qualité tels que le 3SH, la 4MSP ou le FFT. Les niveaux d'OTR<sub>12ans</sub> élevés sont également très significativement corrélés aux teneurs en méthional et phénylacétaldéhyde ainsi qu'à l'évolution de la couleur du vin vers une teinte orangée (DO<sub>420</sub>). L'analyse sensorielle des vins confirme ces résultats. Ils montrent qu'au-delà d'une valeur moyenne d'OTR<sub>12ans</sub> de 0,82 mg/an, le vin de sauvignon blanc aura une tendance plus marquée à développer une évolution oxydative de ses arômes. A notre connaissance, ces mesures, réalisées après 12 ans de conservation tout en abordant la question de la stabilité du transfert d'oxygène sont nouvelles et pourront être valorisées par l'industrie et les vinificateurs, pour qui le choix d'un obturbateur est une opération à la fois compliquée et capitale.

Enfin, nous avons complété nos travaux par l'étude de l'impact de l'usage de la capsule à vis pour la conservation d'un vin de sauvignon blanc sur la base des connaissances acquises sur la conservation des vins de riesling. Nous montrons que l'usage de la capsule à vis, permet de favoriser l'accumulation du

TDN, norisoprénoïde associé à une augmentation de l'intensité de perception du caractère « pétrolé » des vins de sauvignon.

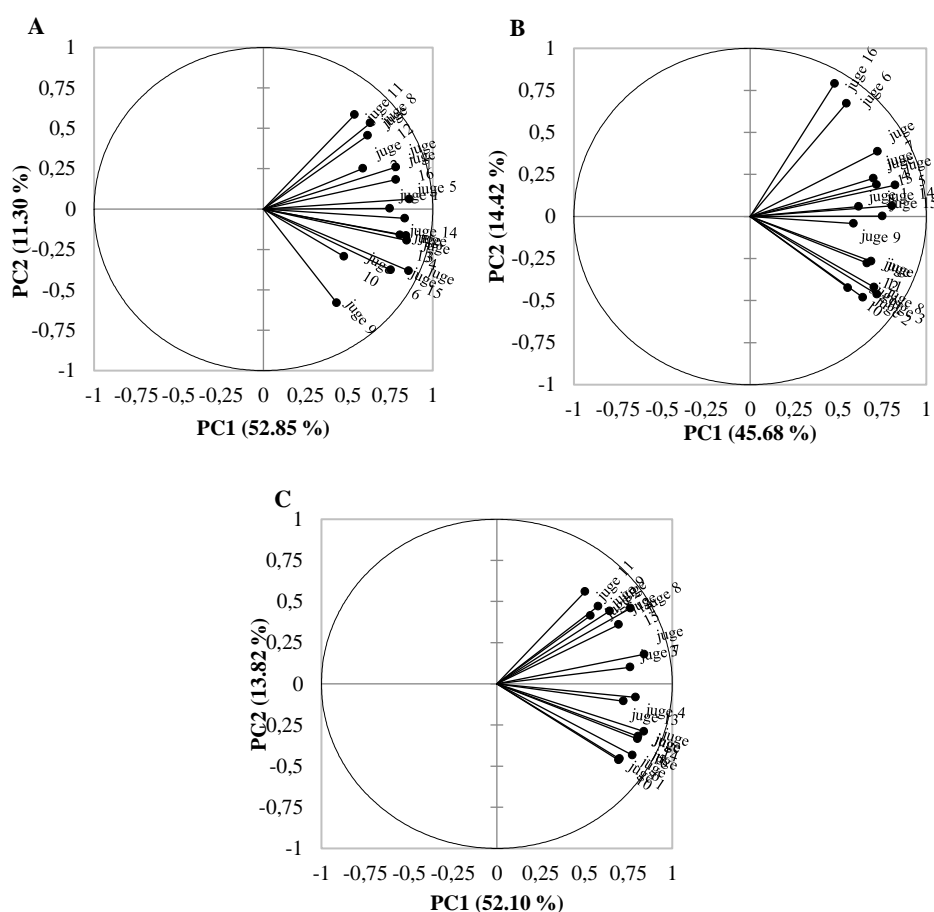
Par ailleurs, les questions relevant de la modification de la typicité de ces vins de sauvignon blanc au cours du vieillissement en bouteille mériteraient une attention particulière. En ce sens, ce travail pourrait être poursuivi afin d'évaluer l'impact du niveau d'expertise du jury, de sa familiarisation avec l'odeur pétrolée (experts riesling *vs.* experts sauvignon), sur l'évaluation du niveau de typicité de ces vins bouchés avec des capsules à vis ou des bouchons en liège.

## 5. Supplementary data

**Table S 12.** Overall composition of thirty-two white wines from Pessac Leognan (2015) at bottling.

Oenological parameters <sup>a</sup>	Descriptive analysis				
	Average	SD	Min	Max	Median
Ethanol (% vol.)	13.51	0.51	12.6	14.6	13.4
pH	3.21	0.103	3.01	3.58	3.2
TA (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	4.13	0.42	3.37	5.1	4.07
VA (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0.42	0.09	0.28	0.71	0.41
Free SO <sub>2</sub> (mg/L)	26.3	7.7	5.0	38.0	27.0
Total SO <sub>2</sub> (mg/L)	113.1	22.1	69.0	178.0	113.0

<sup>a</sup> Chemical analysis of composition of wine a few days after bottling was provided by each winery and determined by different laboratories located in the Bordeaux region. SD: Standard deviation.



**Figure S 23.** PCA biplot of first two principal components of scores of judges obtained for Typicity (A), Aging Bouquet (B) and Oxidation (C).

**Table S 13.** Summary of analyses carried out in steps 2 and 3 on a Sauvignon blanc wine (2007) sealed with different stoppers and two series of natural cork batches (NC-S1 and NC-S2).

Stopper type <sup>a</sup>	Sample number	OTR measurement	Sensory analysis	DCO <sub>2</sub>	Total SO <sub>2</sub>	Varietals thiols <sup>b</sup>	Strecker aldehydes <sup>c</sup>	FFT	TDN
NC-S1	13	x		x		x	x	x	
Diam A	3	x	x	x	x	x	x	x	x
Diam B	2	x	x	x	x	x	x	x	x
Diam C	3	x	x	x	x	x	x	x	x
Saran	3	x	x	x	x	x	x	x	x
Saranex	2	x	x	x	x	x	x	x	x
Synt	3	x	x	x	x	x	x	x	x
NC-S2	4	x	x	x	x	x	x	x	x

<sup>a</sup> Step 3 corresponds to analysis of Step 2 without 13 NC. <sup>b</sup> Varietal thiols: 3SH and 4MSP; <sup>c</sup> Strecker aldehydes: Methional and Phenylacetaldehyde.

Step 2

Step 3

**Table S 14.** Analytical parameters of all samples analysed in the experiment 2, Step 2 and 3.

Stopper type <sup>a</sup>	OTR <sub>12</sub> (mg/year)	Descriptors <sup>b</sup>				4MSP (ng/L)	3SH (ng/L)	FFT (ng/L)	Methional (µg/L)	Phenylacetaldehyde (µg/L)	DCO <sub>2</sub> (g/L)	Total SO <sub>2</sub> (mg/L)
		Sauvignon	Oxidized	Aging Bouquet	Hedonic							
Saran 1	0.16	3.73	1.09	3.57	3.43	14.4	821.0	59.0	1.5	2.6	0.4	67.8
Saran 2	0.16	3.14	1.76	4.66	3.93	6.7	982.7	55.9	0.8	2.2	0.6	68.5
Saran 3	0.16	2.14	1.18	3.07	3.29	10.8	813.2	45.9	0.4	1.2	0.6	69.6
Saranex 1	0.26	2.38	3.79	2.22	2.53	3.5	371.5	5.1	1.4	2.0	0.4	62.3
Saranex 2	0.16	2.74	2.42	2.70	1.48	5.6	409.9	0.9	1.4	3.3	0.6	63.8
Diam A 1	0.16	3.70	1.16	3.53	3.40	7.2	809.0	19.8	1.1	1.7	0.4	72.1
Diam A 2	0.16	4.53	0.96	2.99	3.56	7.9	780.7	18.8	0.4	0.9	0.4	73.7
Diam A 3	0.16	5.14	1.36	3.99	3.41	6.7	703.9	16.2	0.6	2.1	0.5	71.3
Diam B 1	0.16	3.16	2.86	1.93	4.49	0.8	307.3	1.1	1.1	2.0	0.5	61.4
Diam B 2	0.16	2.87	1.67	1.75	4.01	1.3	325.8	0.6	0.8	1.6	0.6	62.3
Diam C 1	6.26	1.44	5.67	1.28	1.90	0.6	57.8	4.2	31.6	15.3	0.2	28.5
Diam C 2	2.71	2.71	3.18	2.85	3.18	2.5	419.9	5.5	0.5	1.2	0.5	60.3
Diam C 3	28.69	2.99	3.54	3.73	3.36	1.0	125.6	3.6	77.3	23.5	0.3	11.2
Synt 1	1.30	1.67	5.22	1.50	2.05	1.7	133.0	3.3	9.6	5.1	0.3	49.0
Synt 2	1.36	1.08	5.51	0.84	2.02	1.1	116.0	1.8	2.4	2.9	0.4	50.9
Synt 3	1.36	0.78	6.28	0.45	1.32	2.7	102.8	0.9	1.2	1.4	0.3	49.2
NC 1	42.76	0.56	7.76	0.59	0.77	0.1	123.1	3.5	25.8	9.7	0.2	38.4
NC 2	0.26	4.85	0.76	3.56	4.65	14.0	985.2	38.0	0.5	1.8	0.6	70.8
NC 3	0.94	3.29	0.32	2.97	4.10	3.7	967.6	7.6	2.7	3.8	0.3	68.8
NC 4	59.46	0.58	7.83	0.92	1.04	1.9	61.8	1.9	38.6	14.6	0.4	26.7
NC 5	44.90	nq	nq	nq	nq	0.1	18.5	2.4	63.9	22.8	0.17	nq
<b>NC 6</b>	<b>34.50</b>	nq	nq	nq	nq	<b>Trace</b>	<b>15.4</b>	<b>7.3</b>	<b>110.9</b>	<b>378.0</b>	<b>0.13</b>	nq
NC 7	6.10	nq	nq	nq	nq	Trace	119.0	Trace	24.1	33.7	0.39	nq
NC 8	4.40	nq	nq	nq	nq	Trace	19.6	0.5	19.9	20.8	0.39	nq
NC 9	3.30	nq	nq	nq	nq	Trace	94.4	0.1	18.8	20.7	0.38	nq
NC 10	2.80	nq	nq	nq	nq	Trace	43.6	0.0	25.5	22.6	0.44	nq
NC 11	2.80	nq	nq	nq	nq	Trace	30.8	0.9	33.2	31.3	0.30	nq
NC 12	2.10	nq	nq	nq	nq	Trace	143.0	8.0	42.4	42.9	0.30	nq
NC 13	1.20	nq	nq	nq	nq	1.5	66.0	0.7	6.4	14.4	0.47	nq
NC 14	0.70	nq	nq	nq	nq	7.2	214.7	Trace	6.2	9.6	0.56	nq
NC 15	0.70	nq	nq	nq	nq	5.0	161.5	2.3	5.4	10.8	0.53	nq
NC 16	0.60	nq	nq	nq	nq	1.3	217.3	2.5	8.8	13.7	0.53	nq
NC 17	0.40	nq	nq	nq	nq	0.3	98.2	2.1	6.5	12.1	0.54	nq

<sup>a</sup> Each analytical parameter was analysed once for each bottle of wine. <sup>b</sup> For the jury n = 16. nq: Not quantified. Sample in bold: withdrawn as outliers. Trace < detection threshold.



**Table S 15.** Triangular test to discriminate Saran and Diam A stoppers.

Test	Results
Number of judges (N)	36
Probability of correct answers	0.972
Probability of guess	0.333
<i>p-value</i> <sup>a</sup>	<0.001

<sup>a</sup>Triangular test using binomial distribution

**Table S 16.** TDN quantification and petroleum intensity of all wine samples analysed in this experiment (Exp.2, Step 3).

Stopper type	N	TDN concentration ( $\mu\text{g/L}$ )					Intensity of Petroleum character <sup>a</sup>				
		Average	SD	Max	Min	Group <sup>2</sup>	Average	SD	Max	Min	Group <sup>b</sup>
Saran	3	5.03	1.54	6.74	3.74	a	3.26	1.07	4.24	2.11	a
Saranex	2	5.09	0.30	5.30	4.87	a	3.71	0.68	4.19	3.23	ab
Diam A	3	0.74	0.21	0.87	0.50	b	1.82	1.09	3.07	1.07	ab
Diam B	2	0.90	0.12	0.99	0.81	b	0.82	0.28	1.02	0.62	b
Diam C	3	1.11	0.08	1.21	1.06	b	0.97	0.44	1.26	0.46	b
Synt	3	0.51	0.65	0.58	0.45	b	0.59	0.36	0.92	0.21	b
NC	4	1.74	0.54	2.49	1.22	b	1.35	1.24	3.11	0.25	ab

<sup>a</sup> n = 12. <sup>b</sup> Determined by ANOVA, post hoc Tukey test on centred data. SD : standard deviation.

Chapitre 5. Etude de la contribution de nouveaux aldéhydes  
insaturés au bouquet de vieillissement des vins blancs de  
sauvignon élevés sous-bois de chêne (*Q. petraea*)



Nous venons de décrire la manière dont le type d'obturbateur, par la nature du matériau utilisé pour sa fabrication ainsi que son OTR, pouvait moduler l'arôme d'un vin de sauvignon. Cette démonstration a été réalisée à partir d'un vin qui n'a pas été élevé en barrique dans sa jeunesse et sur la base d'une approche croisant les résultats de l'analyse sensorielle et de la quantification des marqueurs moléculaires de l'arôme des vins de sauvignon.

Pour autant, il paraît hasardeux et peut être réducteur d'étendre ces conclusions à l'ensemble des vins sans prendre en compte la diversité de l'encépagement ainsi que la spécificité de leur mode d'élaboration. Par exemple, les meilleurs vins de Bordeaux issus du cépage sauvignon blanc et plus généralement les grands vins blancs qu'ils soient de chardonnay, de sémillon, de chenin...etc sont très souvent élevés plusieurs mois (8 à 10 mois) en barrique de chêne. A ce titre, il est important de rappeler que le grand vin est le fruit d'une sélection méticuleuse des raisins, d'une attention particulière portée au suivi des fermentations, d'une protection vis à vis des phénomènes oxydatifs excessifs et également d'un élevage sous-bois de chêne conduit de façon précautionneuse. Pour ces grands vins, se pose alors la question de leur évolution aromatique au cours du temps.

Des travaux réalisés au sein du laboratoire ont abordé cette question en démontrant la contribution d'un obturbateur présentant un faible OTR à la préservation des tonalités variétales de ces vins de sauvignon élevés en barriques et conservés 10 ans en bouteille (Pons *et al.*, 2021). Mais qu'en est-il des tonalités associées à l'évolution de ces vins vers un bouquet ?

Récemment, la caractérisation moléculaire guidée par l'olfaction appliquée aux bois de chêne (*Q. petraea*) a permis l'identification de deux nouveaux composés très odorants (Courregelongue *et al.*, 2022). Ils rappellent la « pâte feuilletée » et le « flocon d'avoine » ainsi qu'un mélange d'odeur à la fois « métallique » et « grasse » : le (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal et le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal.

Ce chapitre propose d'étudier la distribution de ces nouveaux composés dans des vins élevés sous-bois de chêne et conservés 13 ans en bouteille bouchées par différents types d'obturbateurs. Cette approche analytique sera étayée par le dosage des marqueurs connus de la qualité et de l'évolution oxydative des vins blancs : le 3-sulfanylhéxan-1-ol et le méthional. Il sera également complété par un travail d'analyse sensorielle dans le but de préciser la contribution de ces composés au bouquet de vieillissement des grands vins blancs de sauvignon.



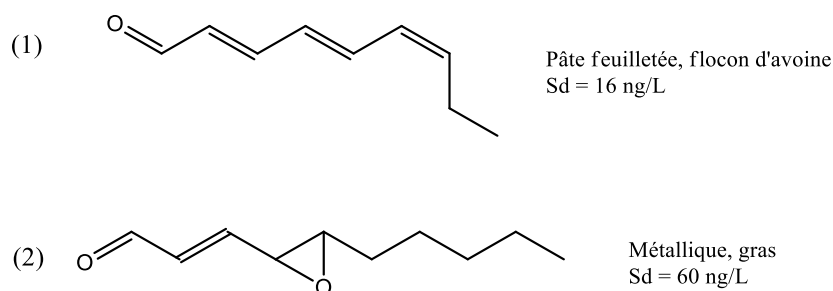
## 1. Introduction et objectifs

Le (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal (1) ainsi que le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal (2) sont des composés carbonylés insaturés très odorants et retrouvés dans de nombreux aliments (Figure 24). Leurs seuils de détection olfactive en solution modèle de composition proche du vin sont très bas : 16 ng/L pour le (1) et 60 ng/L pour le (2).

D'après les travaux de (Schuh & Schieberle, 2005), le (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal contribue à l'arôme caractéristique des flocons d'avoine. En présence de sotolon, un composé rappelant le curry, il contribue de façon significative à l'arôme de la noix (Stübner & Steinhaus, 2023). S'agissant du *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal, il est connu pour être responsable de l'odeur caractéristique du sang (Rachamadugu, 2012; Sarrafchi & Laska, 2017). Il a aussi été identifié dans différents aliments comme l'un des principaux composés d'arôme, par exemple dans les graines de sésame grillées (Schieberle, 1993) ou l'huile de soja (Guth & Grosch, 1990).

Plus récemment, ces deux composés ont été identifiés dans les bois de chêne chauffés ou non puis identifiés dans les vins élevés ou non en barrique de chêne (Courregelongue *et al.*, 2024). Les résultats de l'analyse de 15 vins blancs jeunes (millésimes 2019-2020) issus en grande partie de la région de Bordeaux, révèlent que les concentrations moyennes respectives de ces deux aldéhydes sont de 11,4 ng/L et 265,1 ng/L. La concentration maximale du (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal (1) est voisine de 60 ng/L alors qu'elle atteint près de 524 ng/L pour le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal (2).

Ainsi, selon les résultats de cette dernière étude et sur la base de leur distribution dans les vins blancs, seul le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal contribue à certaines nuances retrouvées dans les vins jeunes de sauvignon. Par exemple, supplémenté à 240 ng/L à un vin de sauvignon, ce composé diminue légèrement l'intensité du caractère « sauvignoné » tout en augmentant très significativement l'intensité du caractère « noisette verte ». Il est à noter que l'isomère (2*E*,4*E*,6*E*) du nonatriénal est également produit au cours de la chauffe du bois de chêne (*Q. petraea*) mais dans des proportions plus faibles que la forme *cis*. Il a également été identifié dans les vins blancs. En revanche, son seuil de détection est très élevé : 22000 fois moins odorant que la forme *cis* (Schuh & Schieberle, 2005). Par conséquent il ne peut contribuer à l'arôme des vins.



**Figure 24.** Structure chimique (2E,4E,6Z)-nonatrienal (1) et *trans*-4,5-époxy-(E)-2-décenal (2).

Les voies de formation de ces aldéhydes dans les vins ne sont pas connues à ce jour. En revanche, d'après Courregelongue *et al.* (2022) la présence de ces composés dans le bois de chêne toasté implique entre autre la thermodégradation d'acides gras insaturés tels que les acides linoléique (C18:2 n-6) et  $\alpha$ -linoléique (C18:3 n-3) retrouvés naturellement dans ces derniers (Donata *et al.*, 2009).

Ainsi, au regard de l'impact sensoriel de ces composés il nous a paru intéressant de les quantifier dans les vins blancs conservés de nombreuses années en bouteille afin d'étudier leur distribution et l'impact du type d'obturateur sur leur concentration.

Ainsi, une fois rappelé brièvement la méthode de quantification par SPE GC-MS (NCI, NH<sub>3</sub>) qui a déjà été publié par ailleurs, ainsi que les vins que nous avons sélectionnés, nous présenterons les résultats de nos analyses complétées par la validation sensorielle de ces derniers.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1.Sélection des vins

Les vins blancs sélectionnés proviennent d'une expérimentation lancée en 2008 à partir de trois crus de la région de Bordeaux (millésime 2007). Ce projet avait pour but d'évaluer sur le long terme l'impact de l'obturateur sur l'évolution aromatique de trois vins blancs de sauvignon.

L'ensemble des conditions de préparation des vins ainsi que les conditions de mise en bouteille ont été décrites par Pons *et al.*, (2021). Brièvement, le premier vin (Bdx) provient de l'appellation Bordeaux, il a été élevé en cuve inox et n'a pas été au contact du bois de chêne. Les deux autres vins (PL 1 et PL 2) sont issus de l'appellation Pessac Léognan, ils ont été conservés en barriques neuves et usagées durant au moins 8 mois. A l'issue de l'élevage, les vins ont été préparés à la mise en bouteille selon les précautions d'usage, c'est-à-dire à l'abris de l'air tout en maintenant une teneur suffisante en SO<sub>2</sub> libre, supérieure à 20 mg/L.

Lors de la mise en bouteille, les vins ont été bouchés avec différents obturateurs selon la répartition décrite dans le Tableau 17. Les bouchons techniques, les synthétiques et les capsules à vis portant les mêmes codes pour chacun des crus sont considérés comme identiques : ils proviennent des mêmes lots de production.

Les vins ont été conservés à température constante tout au long de l'étude chez les crus partenaires. Les analyses ont été effectuées en 2023.

**Tableau 17.** Présentation des échantillons de vin analysés après 13 ans de conservation en bouteilles et bouchés selon différents types d'obturateurs.

Type d'obturateur	Code	OTR <sub>T0</sub> (mg/an) <sup>a</sup>	Vins <sup>c</sup>		
			Bdx	PL1	PL2
Liège Microaggloméré	Diam A	0.3	x	x	x
Liège Microaggloméré	Diam B	0.4	x	x	x
Liège Microaggloméré	Diam C	0.6	x	x	x
Synthétique 1	Synt.1	1.5	x	x	x
Synthétique 2	Synt.2	4.6	-	x	-
Liège naturel	LN	- <sup>b</sup>	x	-	-

<sup>a</sup> OTR<sub>T0</sub> retrouvés dans les fiches techniques des différents fournisseurs. <sup>b</sup> Le liège naturel étant un matériau hétérogène il n'est pas possible de pouvoir mesurer l'OTR d'un lot de bouchon. <sup>c</sup> 1 réplicat par modalité de bouchage.

## 2.2. Méthode de quantification des aldéhydes insaturés dans les vins

La méthode d'analyse correspond à celle publiée par (Courregelongue *et al.*, 2024).

### 2.2.1. Protocole d'extraction

10 mL de vin ont été dopés avec une solution d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA, 10 µL à 60 g/L dans l'eau) et de 3-octanol (étalon interne (EI), 10 µL à 100 mg/L dans l'éthanol). L'extraction des composés carbonylés a été faite par SPE sur des cartouches de type Supelclean LC-18 (500 mg) à l'aide d'un robot GX-274 Large-Volume SPE (Gilson, Middleton, WI).

Dans un premier temps, les cartouches ont été conditionnées avec 2 mL de méthanol puis 2 mL d'éthanol/eau (10:90, v/v) à un débit de 6 mL/min. Ensuite, les échantillons de vin (10 mL) ont été percolés à un débit de 3 mL/min, puis lavés avec 2 mL d'eau ultra-pure et élués avec 3 mL de dichlorométhane puis 3 mL d'un mélange dichlorométhane/méthanol (95:5, v/v) à un débit de 10 mL/min. L'éluât a ensuite été séché par ajout de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis concentré à 50 µL sous flux d'azote. Les extraits ont été conservés au congélateur (-18 °C) avant analyse.



### 2.2.2. Analyse des extraits organiques par GC-MS (NCI, MeOH)

Les extraits organiques (0,5 µL) ont été injectés sur un GC Trace GC Ultra (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) via un injecteur PTV en mode splitless (temps de purge : 1 min et débit de purge : 50 mL/min) avec la programmation de température suivante : 180 °C pendant 30 s, puis 14,5 °C/min jusqu'à 260 °C maintenu pendant 3 min. Le GC était couplé à un MS de type DSQ II (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). La séparation a été faite sur une colonne polaire de type BP20 (50 m x 0.22 mm x 0.25 µm, SGE). L'hélium (Messer, France) a été utilisé comme gaz vecteur, à un débit de 1 mL/min. La programmation de température du four GC a été la suivante : 45 °C maintenu pendant 1 min puis 5 °C/min jusqu'à 200 °C maintenu pendant 5 min. La température de la ligne de transfert était de 250 °C. Les composés ont été ionisés par ionisation chimique en mode négatif (NCI) par utilisation de l'ammoniac (Messer, France) comme gaz réactant, et réglé à un débit de 1,6 mL/min. Le tune du spectromètre de masse est d'abord réalisé en mode EI puis un tune complémentaire sur le FC43 est réalisé en mode NCI avec un débit d'ammoniac similaire à celui utilisé pour l'ionisation des composés cibles. L'acquisition a été faite en mode selected-ion-monitoring (SIM) : 8-18 min,  $m/z$  129 pour l'étalon interne et 18-34 min,  $m/z$  136 et 97 pour les isomères du 2,4,6-nonatriénal et le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal.

La courbe étalon est réalisée à partir du vin PL2, bouché avec un bouchon synthétique, ne présentant pas d'évolution oxydative très marquée et dépourvu de (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal. Chaque bouteille de vin a été analysée en duplicat (n = 2). Selon les modalités deux bouteilles ont été analysées (n = 4).

## 2.3. Quantification des thiols volatils par SPE GC-MS/MS

Le protocole d'extraction et de quantification est identique à celui décrit dans le chapitre 4.

## 2.4. Protocoles d'analyse sensorielle

L'isomère (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal n'est pas commercialisé, seul le mélange d'isomères (2*E*,4*E*,6*Z* et 2*E*,4*E*,6*E*) est disponible chez certains fournisseurs. Pour cette raison, il a été synthétisé au laboratoire lors d'un précédent travail de thèse Courregelongue *et al.*, (2022). Une solution à 1 g/L préparée dans l'éthanol HPLC est conservée à -20°C. Les dilutions sont réalisées le jour de l'expérience.

Nous avons évalué l'impact de l'ajout du (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal sur l'arôme du vin sauvignon PL2 (appellation Pessac Léognan) dans une salle de dégustation pour laquelle la température est constante et ajustée à 20 °C. Les échantillons de vins ont été présentés dans des verres noirs recouverts d'un couvercle en plastique (boîte de Petrie) portant des codes à trois chiffres générés aléatoirement. Les

échantillons sont présentés de façon aléatoire aux dégustateurs, tous issus de l'UMR Œnologie et sélectionnés pour leur expérience dans l'évaluation sensorielle des vins et particulièrement ceux du cépage sauvignon. Les séances se sont tenues en fin de matinée. L'évaluation orthonasale des vins s'est déroulée de deux différentes manières.

Le premier test, descriptif, a consisté à demander au panel d'évaluer l'intensité de descripteurs préalablement sélectionnés : le caractère « sauvignon », la fraîcheur, la complexité, la brioche, la poudre d'amande ainsi que le café torréfié.

Le second test est une version simplifiée de la méthode descriptive PSP (Positionnement sensoriel polarisé) développée pour l'évaluation sensorielle des produits présentant de faibles similitudes tels que l'eau (Teillet *et al.*, 2010). Cette méthode est basée sur la comparaison d'échantillons à un set de produits de références appelés « pôles ». Le principe général est de déterminer les similarités entre les échantillons de vin et les pôles judicieusement choisis. C'est une méthode non verbale. Dans sa version classique plusieurs pôles peuvent être choisis. Nous l'avons adapté à notre contexte en définissant uniquement une échelle linéaire continue de 10 cm bornée par deux échantillons (N- et N+) correspondant à deux types d'obturateur : synthétique (Synt.1) et microaggloméré (Diam B). Ces deux vins ont été sélectionnés sur la base de leurs teneurs en (2E,4E,6Z)-nonatriénal ainsi que leurs équilibres aromatiques singuliers. Par la suite, trois échantillons de vin ont été évalués selon leur niveau de similitude aux échantillons N- ou N+. Le premier correspond au vin du millésime 2007, bouché par un obturateur synthétique qui n'est pas oxydé et ne contient pas de (2E,4E,6Z)-nonatriénal. Il s'agit de l'échantillon N- correspondant à la borne inférieure de l'échelle. Le second échantillon correspond à la modalité N- supplémentée à 30 ng/L, le troisième à la concentration maximale retrouvée dans ce vin blanc soit 50 ng/L de (2E,4E,6Z)-nonatriénal.

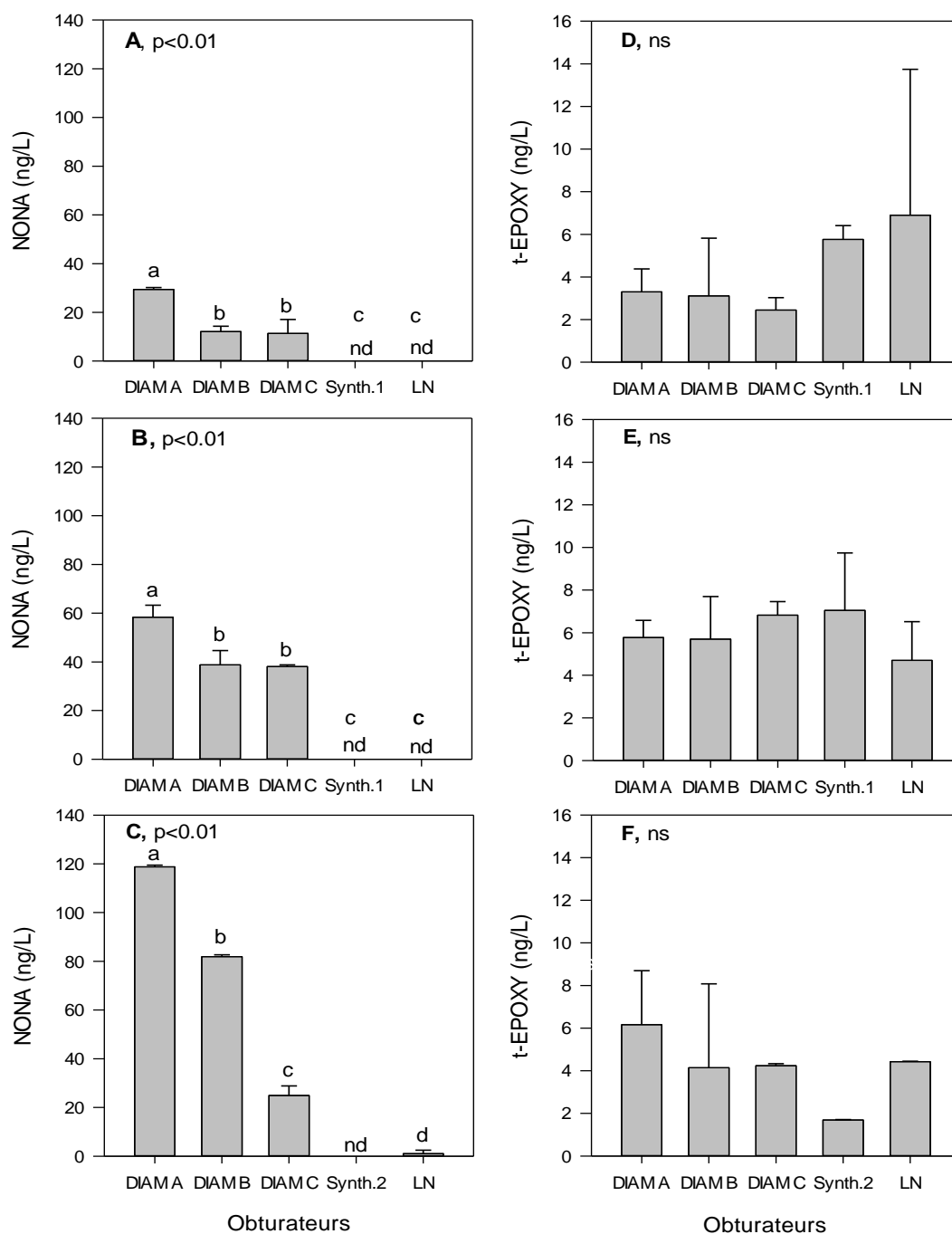
### 3. Resultats et discussion

#### 3.1. Impact du type d'obturateur sur les teneurs des isomères du 2,4,6-nonatriénal et du *trans*-4,5-époxy-(E)-2-décénal des vins blancs de sauvignon

La méthode utilisée pour le dosage de ces composés carbonylés a été précédemment validée au laboratoire. Elle est adaptée pour leur quantification dans les vins blancs. Les LOD respectives pour les isomères du 2,4,6-nonatriénal et du *trans*-4,5-époxy-(E)-2-décénal sont de 4,2 ng/L et 3,9 ng/L avec une répétabilité de 13 % (Courregelongue *et al.*, 2024).

Les résultats des dosages des aldéhydes dans les trois vins de sauvignon conservés 13 années en bouteille selon différents types d'obturateurs sont présentés en Figure 25. Il est à noter que parmi les deux isomères du 2,4,6-nonatriénal seule la forme *cis* a été détectée dans ces échantillons.

Nous montrons que pour le (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal les concentrations sont très variables d'un cru à un autre et surtout d'un type d'obturateur à l'autre. Dans certains échantillons il n'a pas été détecté alors que dans d'autres ses teneurs atteignent 118,8 ng/L et dépassent son seuil de détection olfactive (16 ng/L). Nous montrons que ces valeurs sont significativement différentes selon le type d'obturateur ( $p < 0,01$ ) quelle que soit la nature du cru considéré (Bdx, PL1 et PL2). Les vins conservés avec des lièges microagglomérés en contiennent des teneurs significativement plus importantes par rapport au liège naturel et à l'obturateur synthétique. Au sein de la catégorie liège microaggloméré, provenant d'un même fournisseur, sa teneur est significativement modifiée selon l' $OTR_{T0}$  de l'obturateur. Les teneurs les plus importantes sont systématiquement retrouvées avec l'obturateur présentant un  $OTR_{T0}$  le plus faible (0,3 mg/an).



**Figure 25.** Distribution du  $(2E,4E,6Z)$ -nonatriénal (NONA) et du *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal (t-Epoxy) dans les trois vins blancs de sauvignon de Bordeaux après 13 ans de conservation en bouteille selon les différentes modalités de bouchage : 3 liège microaggloméré (Diam A, B et C) avec trois niveaux d'OTR, un bouchon synthétique (Synt.1 ou Synt.2) et un liège naturel (LN). Les échantillons sont classés selon le type et par valeur croissante du niveau d'OTR<sub>T0</sub> de l'obturateur. Bdx (A, D), PL1 (B, E) ; PL2 (C, F). nd : non détecté. Les différentes lettres correspondent à des différences significatives au seuil de  $p < 0,01$  (ANOVA, test *post hoc* Dunn).

Pour ce type de bouchon dont on connaît la stabilité dans le temps et l'homogénéité des propriétés mécaniques (Pons *et al.*, 2021), il est possible de comparer les teneurs en (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal entre les trois crus. Ainsi, nous montrons que ses teneurs moyennes sont significativement plus importantes dans le vin PL2 (118,8 ng/L). En seconde position on retrouve PL1 (58,4 ng/L) puis le vin de Bordeaux qui n'a pas été élevé au contact du bois de chêne Bdx (29,4 ng/L). Au regard de ces premières observations ce composé semble être potentiellement impliqué dans l'arôme de ces vieux vins, surtout ceux qui ont été élevés au contact du bois de chêne. Plusieurs pistes permettent d'expliquer ces différences bien que les dosages n'aient pu être réalisés au lancement de cet essai en 2008 : l'identification de cet aldéhyde insaturé étant postérieure à son lancement.

L'origine de ce composé dans les vins n'est pas totalement élucidée mais les récents travaux menés au laboratoire mettent en évidence une origine à la fois variétale ou tout au moins en lien avec le processus de vinification et une origine exogène, apportée par l'élevage sous-bois de chêne.

En effet, ce dernier permet d'apporter des quantités non négligeables de (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal et ce, selon l'intensité de la chauffe appliquée au bois et la durée de l'élevage (Courregelongue *et al.*, 2022; 2024). Toutefois, selon les premiers résultats de ces dernières études, les concentrations maximales retrouvées dans les vins jeunes élevés sous-bois ne dépassaient pas 60 ng/L. Cette valeur reste plus faible que la concentration maximale retrouvée dans le vin PL2 bouché avec un obturateur microaggloméré Diam A (Figure 25 C). Toutefois, il n'est pas exclu que certaines modalités d'élevage puissent apporter des teneurs beaucoup plus importantes aux vins blancs.

Une autre hypothèse tient à la perméabilité à l'oxygène de l'obturateur qui pourrait également induire des modifications chimiques modulant sa concentration au cours du vieillissement en bouteille.

Selon Schuh & Schieberle, (2005), les isomères du 2,4,6-nonatriénal peuvent se former par auto-oxydation de l'acide  $\alpha$ -linoléique, sous l'action de la chaleur à pH = 5,5, avec une prépondérance de l'isomère (2*E*,4*E*,6*E*) par rapport à l'isomère (2*E*,4*E*,6*Z*). Dans la nature, les doubles liaisons des acides gras sont majoritairement sous forme *cis* (Adrian *et al.*, 1995). Ainsi, lors de sa dégradation par application d'un traitement thermique, l'acide  $\alpha$ -linoléique forme préférentiellement l'isomère (2*E*,4*E*,6*Z*) au profit de l'isomère (2*E*,4*E*,6*E*). Par contre les formes *cis* étant moins stables d'un point de vue thermodynamique (encombrement stérique), elles s'isomérisent facilement en forme *trans*. Des résultats similaires ont été obtenus lors de l'oxydation d'un vin rouge supplémenté en acide  $\alpha$ -linoléique : le ratio *EEE/EEZ* étant très favorablement déplacé vers la forme *EEE*, compris entre 2 et 8 (Courregelongue, 2021).

Ainsi, ce composé peut provenir de l'oxydation de l'acide  $\alpha$ -linoléique. Si tel était le cas nous aurions pu nous attendre à détecter la présence de la forme *trans*, la plus stable après plusieurs années de vieillissement en bouteille. Ce qui n'est pas le cas, car cet isomère n'a pas été retrouvé dans ces échantillons. Par ailleurs, la présence de trois insaturations sur son squelette carboné le rend également

assez réactif vis-à-vis des mécanismes oxydatifs et des espèces électrophiles générées au cours de ce processus chimique.

Ces éléments tendent à conforter l'hypothèse formulée précédemment selon laquelle la contribution de l'élevage sous-bois permet de céder au vin des quantités importantes de la forme *cis*. Cette dernière serait stabilisée dans des conditions d'oxydation faibles à ménagées permises par l'usage d'obturateurs à faible OTR.

En complément et au regard du niveau d'évolution oxydative similaire du Synt.2 et du liège microaggloméré Diam A du vin blanc PL2, il est surprenant que ses teneurs soient très différentes (Tableau 19). Sur la base des résultats de la littérature concernant l'adsorption des composés linéaires aliphatiques sur les bouchons en plastique (Sajilata *et al.*, 2007) il n'est pas exclu que ce dernier puisse être adsorbé par le bouchon synthétique (effet scalping) comme nous l'avons déjà montré pour un autre composé carbonyle présentant une longue chaîne alkyle, la 3-méthyl-2,4-nonanedione (Pons *et al.*, 2023).

Concernant le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal, ses concentrations sont très faibles, comprises entre 1,8 ng/L et 13,8 ng/L et largement inférieures à son seuil de détection olfactif (60 ng/L). Par conséquent, dans le cadre de cette expérimentation, nous pouvons conclure que le type de bouchon et l'OTR influencent très faiblement sa teneur dans les vins.

### **3.2. Caractérisation sensorielle des vins blancs de sauvignon selon leur teneur en (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal**

Nous venons de montrer que l'isomère (2*E*,4*E*,6*Z*) du nonatriénal est présent dans les vieux vins blancs à des concentrations très variables pouvant atteindre 118,8 ng/L. Cette partie propose d'étudier plus précisément la contribution de ce composé à l'arôme de ces vieux vins.

Pour ce faire, un vin de la série PL1 dépourvu de (2*E*,4*E*,6*Z*) du nonatriénal et peu oxydé (Synt.1) a été sélectionné et supplémenté de teneurs croissantes en cet aldéhyde. Nous avons soumis ces vins à un panel de dégustateurs entraînés à l'évaluation sensorielle des vins blancs de sauvignon. La sélection des descripteurs a été réalisée en petit comité. Ils sont représentatifs de ceux retrouvés dans un vin de sauvignon âgé mais non oxydé et également du mélange d'odeur développé par cet aldéhyde dès lors qu'il est supplémenté à un vin. Les descripteurs sont les suivants : la fraîcheur, la caractère sauvignon ainsi que les descripteurs abricot sec, brioche, poudre d'amande fraîche et café torréfié (Tableau 18).

### 3.2.1. Impact du type d'obturateur sur l'évolution oxydative du vin PL1

En préambule, nous avons étudié l'équilibre aromatique ainsi que la composition du vin de Pessac Léognan PL.1 pour les modalités bouchées avec un obturateur synthétique (Synt.1) et microaggloméré Diam A. Pour ce faire, nous avons demandé à un jury expert d'évaluer l'intensité des descripteurs « sauvignon » et « oxydation » de ces deux vins. L'analyse du 3SH et du méthional est venue valider ces résultats (Tableau 18). Nous montrons que le vin bouché avec ces deux types d'obturateurs présente des teneurs en 3SH identiques et des teneurs en méthional légèrement plus élevées pour la modalité Synt.2 mais qui ne sont pas discriminantes d'un point de vue sensoriel.

Pour cette raison il est possible d'utiliser ces deux vins pour nos essais de supplémentation.

**Tableau 18.** Evaluation sensorielle et composition du vin PL1 après 13 ans de conservation en bouteille selon deux types d'obturateur.

Bouchons	Intensité du caractère oxydé <sup>1</sup>	3SH (ng/L)	Méthional (µg/L)
Synt. 1	5,7 (1,8)	278,1 (30,1)	4,75 (0,4) a
Diam A	5,6 (2,0)	274,6 (28,8)	3,08 (0,4) b

<sup>1</sup> n = 11, Ecart-type entre parenthèse, Les lettres différentes indiquent un niveau de significativité p<0,05 (t-test).

### 3.2.2. Impact du (2E,4E,6Z) du nonatriénal sur l'arôme d'un vin blanc conservé 14 ans

L'analyse statistique des résultats de la dégustation montre que seuls les descripteurs sauvignon, abricot sec et poudre d'amande fraîche voient leur intensité significativement modifiée (p<0,05) par l'addition de cet aldéhyde en concentration supraliminaire (Tableau 19). Cette modification de l'arôme du vin, via des phénomènes d'interaction perceptive, intervient de façon significative à partir de teneurs supérieures à 100 ng/L (Figure 26). Ce phénomène est bien décrit dans la littérature et concerne bon nombre de familles chimiques, et notamment des aldéhydes, qui interagissent entre elles pour moduler l'arôme final du vin via des phénomènes d'additivité, de synergie ou d'antagonisme (Culleré *et al.*, 2007).

Ainsi, nous pouvons conclure à un impact significatif de cet aldéhyde à l'arôme du vin PL2 conservé avec deux obturateurs en liège microaggloméré ayant un faible OTR<sub>T0</sub> et le Diam A et Diam B.

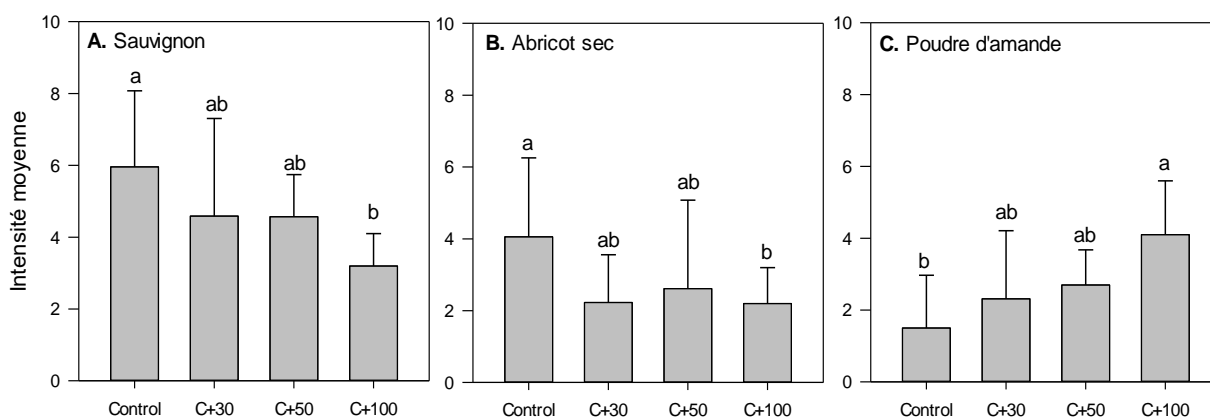
A notre connaissance, le descripteur poudre d'amande fraîche est peu utilisé pour décrire l'arôme des vins de sauvignon bien qu'il puisse être associé à un élevage en barrique de chêne. En revanche, il rentre dans la palette olfactive des vins issus du cépage chardonnay qu'ils soient de Bourgogne ou de Champagne. Ce

travail exploratoire permet d'apporter des compléments d'informations relatifs à la genèse d'un bouquet de vieillissement propre aux vins de sauvignon en lien avec le niveau d'OTR du bouchon.

**Tableau 19.** Impact de l'addition du (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal sur l'intensité des descripteurs olfactifs d'un vin blanc de sauvignon conservé 13 ans en bouteille.

Descripteurs	F <sup>a</sup>	P value
Fraicheur	1,14	0,355
Sauvignon	3,97	<b>0,0093</b>
Abricot sec	2,70	<b>0,041</b>
Brioche	0,09	0,983
Poudre d'amande fraîche	3,07	<b>0,031</b>
Café grillé	0,921	0,455

<sup>a</sup> F crit = 2,689. n = 7. ANOVA à un facteur appliqué sur les données centrées réduites. En gras effet significatif à p<0,05.



**Figure 26.** Incidence de l'ajout de concentrations croissantes en (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénal (ng/L) à un vin blanc de sauvignon non oxydé conservé 13 ans en bouteille sur l'intensité des descripteurs sauvignon (A), abricot sec (B) et poudre d'amande fraîche (C). Les traitements statistiques ont été conduits sur les données centrées réduites. Les différentes lettres correspondent à des différences au seuil de p<0,05. (n = 7).



### **3.3. Etude de la contribution du (2E,4E,6Z)-nonatriénal à l'arôme du vin selon le type d'obturateur**

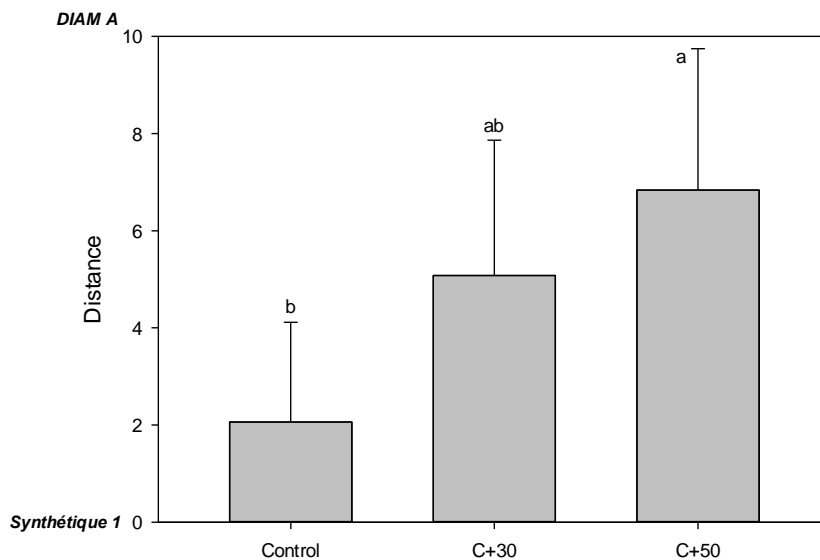
Après avoir mis en évidence l'impact sensoriel de cet aldéhyde, nous nous sommes interrogés sur sa contribution réelle dans le cadre d'un essai comparatif des performances de différents obturateurs.

Pour ce faire, nous avons sélectionné deux obturateurs utilisés pour conserver le vin PL1. Le premier est le Synt.2 dépourvu de nonatriénal (N-) alors que le second est le bouchon microaggloméré (Diam A) sélectionné pour sa teneur élevée en cet aldéhyde (N+).

Par conséquent, ces deux échantillons constituent les deux bornes de notre échelle linéaire. A gauche le Synt.2 avec la position « 0 » et à l'autre extrémité le Diam A avec la position de « 10 ». Pour chaque dégustateur, nous leur avons demandé de positionner trois échantillons, présentés de façon aléatoire, selon leur niveau de similitude avec les échantillons présentés aux extrémités des deux bornes. Les trois échantillons étaient préparés à partir du vin de la modalité Synt.2 supplémenté à 30 ng/L et 50 ng/L.

Nous montrons que les trois échantillons présentent des niveaux de similitudes significativement différents (Figure 27). L'échantillon « contrôle » identique à celui de la borne inférieure (0, N-) est bien perçu comme proche (Distance moyenne = 2,06 cm). Ce résultat valide la qualité de l'évaluation sensorielle du jury. En ce qui concerne les échantillons supplémentés à 30 ng/L et 50 ng/L, on peut remarquer qu'ils s'écartent progressivement et de façon significative du vin témoin pour se rapprocher du vin bouché Diam A et riche en nonatriénal.

Ce résultat confirme définitivement l'impact de la présence du (2E,4E,6Z)-nonatriénal sur l'arôme du vin blanc. Par conséquent, l'arôme des deux vins de Pessac Léognan conservés plus de 13 ans en bouteille selon différents types d'obturateur et présentant des teneurs en thiols volatils et composés d'oxydation similaires, est gouverné de façon importante par la présence de ce nouveau composé.



**Figure 27.** Distance moyenne des trois échantillons sur une échelle définie par deux pôles contenant naturellement des teneurs différentes en cet aldéhyde (N) : les modalités Synt.1 (position 0, N-) et Diam A (position 10, N+). Le vin de sauvignon PL1 (millésime 2007) control (Synt.2) est supplémenté de teneurs croissantes en (2E,4E,6Z)-nonatriénal. Les traitements statistiques ont été conduits sur les données centrées réduites. Les différentes lettres correspondent à des différences au seuil de  $p < 0,05$ . (n = 7).

## 4. Conclusion

Dans ce chapitre nous nous sommes inspirés de travaux menés au laboratoire portant sur la caractérisation moléculaire de l'arôme du bois de chêne chauffé et de l'identification de deux composés très odorants : le (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénel et le *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal. Ces derniers, par les tonalités aromatiques qu'ils développent, contribuent à la complexité aromatique de ces bois.

Sur la base de travaux préliminaires menés sur l'analyse de la distribution de ces composés dans de nombreux vins blancs jeunes, nous avons prolongé ces investigations par l'étude de leur distribution dans les vins conservés 13 ans en bouteille et bouchés par des obturateurs différents.

L'analyse des extraits organiques de vin par GC-MS (NCI) révèle que seul le (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénel est retrouvé à des concentrations importantes pouvant atteindre 128,8 ng/L et dépassant ainsi son seuil de détection olfactive (16 ng/L). Les concentrations en *trans*-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal sont faibles, ne dépassant pas 14 ng/L et similaires quel que soit le type de vin et la qualité de l'obturateur utilisé.

L'origine de ces composés dans les vins vieux n'est pas totalement élucidée mais au regard des résultats obtenus il apparaît qu'un élevage sous bois de chêne et le choix d'un obturateur à faible OTR<sub>T0</sub> puissent conditionner la présence de ce composé après un long vieillissement en bouteille.

Par la suite, un travail d'analyse sensorielle conduit sur un vieux vin nous a permis de montrer un éclairage nouveau sur sa contribution olfactive. Nous montrons que la supplémentation du (2*E*,4*E*,6*Z*)-nonatriénel à ce vin non oxydé provoque à la fois une diminution de l'intensité du caractère sauvignon et abricot sec et une augmentation de la tonalité « poudre d'amande fraîche ».

Finalement, il n'est pas exclu que ces nouvelles tonalités apportent de la complexité au produit.

Bien entendu ces premiers résultats ouvrent de nouvelles perspectives en termes d'interprétation moléculaire de l'évolution aromatique des vins blancs au cours du vieillissement en lien avec le développement d'un bouquet. Ils mériteront d'être étendus à d'autres vins blancs élaborés à partir de cépages issus d'autres zones géographiques. Par ailleurs, d'autres travaux nécessitant la formation d'un panel à l'évaluation sensorielle de ces tonalités aromatiques en lien avec la complexité permettraient d'apporter des éléments de réponse concernant l'évaluation et l'appréciation de ces tonalités en lien avec la typicité de ces vieux vins de sauvignon.

---

PARTIE III. Recherches sur les déterminants  
moléculaires du bouquet de vieillissement des grands  
vins rouges en lien avec l'OTR de l'obturateur

---



Comme nous l'avons évoqué dans le chapitre introductif à ce travail de thèse, l'évolution de l'arôme des vins blancs au cours du vieillissement, qu'il soit examiné d'un point de vue sensoriel ou moléculaire, est bien plus documentée que celle des vins rouges. Il existe de nombreux marqueurs moléculaires permettant de rendre compte de la qualité d'évolution de ces vins. D'ailleurs, c'est grâce à ces connaissances que nous avons pu décrire l'effet du niveau d'OTR des obturateurs sur l'évolution de l'arôme des vins blancs de sauvignon.

Les premières études traitant de l'impact de l'obturateur sur l'évolution des vins rouges ont utilisé les marqueurs œnologiques « classiques » tels que les teneurs en SO<sub>2</sub> libre et total, la couleur ou encore les teneurs en CO<sub>2</sub> dissous (Han *et al.*, 2015; Pons *et al.*, 2022; Vidal *et al.*, 2017a; Wirth *et al.*, 2010). Certains d'entre eux se sont également intéressés à l'évolution des vins par le prisme de l'évaluation sensorielle en étudiant les descripteurs les plus communs tels que les tonalités fruitées et les défauts d'oxydation et de réduction. La plupart de ces travaux ont été menés sur une période courte, le plus souvent inférieure à 5 ans.

Dans ces conditions, l'objectif de ces travaux était de s'intéresser à l'impact de l'obturateur sur l'évolution du vin jeune. Or, pour les meilleurs d'entre eux, il est empiriquement acquis que l'apparition d'un bouquet de vieillissement est indissociable d'un long vieillissement en bouteille, supérieur à 5 ans. L'apparition de ce bouquet se traduit par un mélange complexe de nuances rappelant, selon les vins et les cépages, la truffe, des odeurs mentholées, torrifiées, empyreumatiques, de réglisse, d'épices, de sous-bois, de chocolat noir ou encore de viande grillée.

Récemment, les travaux de Pons *et al.* (2022) ont montré l'impact des principaux obturateurs retrouvés sur le marché sur la composition de plusieurs vins rouges de Bordeaux après 10 ans de conservation. Les principaux marqueurs moléculaires d'impact sur lesquels s'est appuyé ce travail sont les thiols volatils (3SH, 4MSP, FFT), les composés soufrés légers (DMS et H<sub>2</sub>S) et la MND, marqueurs de l'évolution oxydative des vins rouges. Le principal enseignement de cette étude est de montrer que la connaissance de l'OTR des bouchons à T0 permet d'expliquer, pour certains d'entre eux, l'évolution de la composition moléculaire des vins après 10 ans de conservation.

Les travaux de Picard *et al.* (2015) ont permis de montrer pour la première fois que le DMS, le FFT et le 3SH étaient retrouvés en quantité plus importante dans des vins rouges de Bordeaux développant un bouquet, associé à la présence de tonalités à la fois mentholées et torrifiées et rappelant le sous-bois. Ces grands vins rouges conservés plus de 10 ans en bouteille étaient tous bouchés par des bouchons en liège naturel. Malheureusement, cette étude ne prend pas en compte ce paramètre dans l'interprétation de ses résultats.

Pour autant, sur la base de notre expérience, il semble que la connaissance de ces composés odorants ne suffise pas à expliquer les différentes expressions du bouquet de vieillissement des grands vins rouges.

Cette troisième partie propose de caractériser au niveau sensoriel et moléculaire l'évolution qualitative du vin rouge vers un bouquet, en lien avec un apport en oxygène contrôlé et modéré. Elle est structurée en trois chapitres respectant la chronologie de ce travail de recherche.

Le premier décrit notre approche de caractérisation du bouquet selon une stratégie dite « conventionnelle » c'est à dire guidée par l'olfaction. Il s'appuie sur une sélection minutieuse de vieux vins rouges conservés plus de 12 ans en bouteille et bouchés par différents obturateurs. Ces vins sont ensuite soumis à différentes techniques analytiques permettant l'identification d'un composé d'intérêt. Le second chapitre présente les résultats obtenus dans le cadre de la mise en place d'une nouvelle stratégie, à la croisée des techniques de synthèse organique et de chimie analytique. Elle nous a permis d'identifier de nouveaux composés de type thiols dans les vins rouges élevés sous bois de chêne et développant un bouquet ; elle vient d'être acceptée pour publication dans le journal *Food Chemistry* (Suhas *et al.*, 2024). Le dernier chapitre est dédié à l'étude de la distribution de ces nouveaux composés dans les vins rouges.

Chapitre 6. Caractérisation des composés d'impact en lien  
avec le bouquet d'évolution des vins rouges : approche  
conventionnelle





# 1. Introduction

L'évolution aromatique des vins rouges en bouteille vers l'expression des notes subtiles et équilibrées du bouquet est un phénomène lent et complexe pouvant être influencé par de nombreux paramètres (composition du vin, température, lumière, obturateur). Par exemple, certains grands vins rouges tendent à développer des tonalités complexes de truffe, de sous-bois, empyreumatiques, grillées, mentholées, torréfiées, ou encore boisées (Picard *et al.*, 2015). Cependant, les connaissances sur les composés odorants d'impact associés à ces différentes notes nécessitent d'être, aujourd'hui encore, approfondies.

La recherche et l'identification de composés volatils ayant un impact sur l'arôme du vin, a fait l'objet de nombreuses études. Les auteurs travaillent depuis des décennies sur la caractérisation moléculaire des vins par l'identification de marqueurs aromatiques permettant d'expliquer, de quantifier un phénomène. Pour accomplir cette tâche souvent hasardeuse, les chercheurs ont à disposition de nombreuses méthodes de chimie analytique associées à l'évaluation sensorielle (Chen & Darriet, 2021). La stratégie classiquement utilisée consiste en une succession d'étapes guidées par l'olfaction : la sélection du modèle (vin marqué et témoin), l'extraction de la fraction volatile, la séparation des composés odorants, la caractérisation chimique permettant l'identification, la validation de l'intérêt de la molécule identifiée par son dosage et l'étude de ses propriétés sensorielles.

Ce chapitre propose de décrire les investigations que nous avons menées pour caractériser l'arôme des vins rouges conservés de nombreuses années en bouteilles et développant un bouquet d'évolution.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Sélection des vins rouges

#### 2.1.1. Vins sélectionnés pour le travail de caractérisation et de quantification

Les échantillons de vin proviennent d'un essai obturateur lancé en 2008 en collaboration avec un cru de l'appellation Graves (Pons *et al.*, 2022), issu d'un assemblage de merlot (70 %) et de cabernet sauvignon (30 %). Ce vin (GV) du millésime 2006 a été élevé en barrique de chêne durant 10 mois. Il a été bouché selon six modalités présentant différents niveaux d'OTR<sub>T0</sub>: trois bouchons en liège microaggloméré de perméabilité croissante (Diam A, OTR<sub>T0</sub> 0,3 mg/an ; Diam B, OTR<sub>T0</sub> 0,4 mg/an et Diam C, OTR<sub>T0</sub> 0,6 mg/an), un bouchon en liège naturel (LN) et un bouchon synthétique (Synt, OTR<sub>T0</sub> 4,6 mg/an). Seuls les vins bouchés par un obturateur peu perméable à l'oxygène (Diam A) et perméable à l'oxygène (Synt) ont été utilisés au cours de cette première étape. Ils ont été nommés respectivement GV1 et GV2.

Nous avons également sélectionné un vin rouge jeune (V1) de l'appellation Bordeaux (Chantet Blanet) constitué d'un assemblage de cabernet sauvignon, cabernet franc et de merlot. Issu du millésime 2020, il est élaboré en l'absence de bois et présente des notes marquées de fruits frais.

### 2.1.2. Vins sélectionnés pour le travail de quantification

Les vins rouges sont composés majoritairement de cabernet sauvignon (> 60 %) et proviennent de trois crus issus de trois grandes régions de production : Bordeaux (appellation Pauillac, PA), Italie (Toscane, IT) et Californie (Napa Valley, NV). Ils ont été élevés au moins 12 mois en barrique. Pour chacun de ces crus, nous avons analysé 17 millésimes successifs de 2000 à 2016.

L'ensemble des échantillons de vins bouchés avec différents obturateurs et présentés lors du travail de caractérisation ont également été analysés.

## 2.2. Réactifs et produits chimiques

Le 3-octanol (>99 %), le dichlorométhane (qualité HPLC) et le 5-éthyl-3-hydroxy-4-méthylfuran-2(5H)-one (abhexone, >98 %) provenaient de Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). De l'eau ultra-pure a été utilisée pour toutes les préparations d'échantillons et les vins modèles (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, USA). Le sulfate de sodium anhydre (99 %) a été fourni par Prolabo (Lyon, France). L'éthanol (qualité HPLC) a été acheté à Merck KGaA (Darmstadt, Allemagne).

## 2.3. Extraction des composés volatils

L'extraction des composés volatils par du dichlorométhane a nécessité 600 mL de vin (3 x 50 mL, 10, 10 et 5 min, 750 rpm). L'ensemble des phases organiques collectées ont été rassemblées, séchées à l'aide de sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) puis concentrées sous un flux d'azote jusqu'à 500 µL. Les extraits obtenus ont été conservés entre les analyses au congélateur (-18 °C).

## 2.4. Purification par fractionnement en chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Le protocole utilisé correspond à celui décrit par Courregelongue *et al.* (2022). Une fois le vin extrait, 250 µL sont injectés en chromatographie liquide sur une colonne Nova Pack HR C<sub>18</sub> (6 µm, 60 Å, 7,8 x 300 mm, Waters) montée sur un système HPLC Waters (Milford, MA) constitué d'une pompe et d'un contrôleur automatique de gradient. Un gradient linéaire de solvant (de 100 % eau à 100 % d'éthanol) a

permis de séparer les composés en 50 fractions d'un volume de 1 mL (débit de 1mL/min). Pour l'ensemble des fractions obtenues la teneur en éthanol a ensuite été ajustée à 10 % vol. (v/v) d'éthanol avant flairage par un panel de trois personnes. Une fois l'odeur des fractions caractérisée, celles présentant un intérêt ont été à nouveau extraites par du dichlorométhane (3 x 0,5 mL, 2, 2 et 1 min à 750 rpm), séchées et concentrées à 500 µL avant analyse par GC-O.

## **2.5. Chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O)**

Pour chaque échantillon, l'analyse GC-O a été menée sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890A (Agilent Technologies, Santa Clara CA) couplé à un olfactomètre ODP-1 (Gerstel, Müllen an der Ruhr, Allemagne). Le gaz vecteur était de l'hélium (He) (Messer, Bordeaux, France, grade 5,3) à un débit constant de 1 mL/min. L'extrait organique (1µL) a été injecté manuellement dans un injecteur en mode splitless (temps de purge : 1 min avec un débit de 50 mL/min) à 230 °C. Selon les expériences, les composés volatils ont été séparés par deux types de colonnes chromatographiques présentant des polarités différentes : une colonne polaire BP20 (50 m × 0,22 mm × 0,25 µm, SGE) et une colonne apolaire BPX5 (50 m × 0,22 mm × 0,25 µm SGE). La température du four a été initialement réglée à 45 °C pendant 1 minute, puis portée à 250 °C à une vitesse de 3 °C/min, et maintenue à cette température pendant 5 minutes. Chaque échantillon a été analysé plusieurs fois par le panel constitué de trois personnes, tous membres du laboratoire. L'analyse GC-O a été menée sur la plage 10-60 minutes.

## **2.6. Chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse à temps de vol (GC-O-TOF MS)**

Les analyses ont été effectuées sur un système Agilent 7890A (Oven II, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) couplé à un port de détection olfactométrique ODP-3 (Gerstel Mülheim an der Ruhr, Allemagne) et un spectromètre de masse haute résolution JMS-T100GC (JEOL Ltd, Akishima, Tokyo, Japon). Les conditions chromatographiques sont identiques à celles décrites pour les expériences en GC-O. A la sortie de la colonne analytique le débit est divisé en deux par une pièce croix (Gerstel) permettant d'alimenter le spectromètre de masse et le port d'olfaction avec le même débit.

Les composés sont détectés en mode balayage ( $m/z$  45-300), avec une énergie d'ionisation fixée à 70 eV et une température de source à 250 °C. L'acquisition du signal a été effectuée par le logiciel de la station de travail MassCenter™. Le système a été optimisé avec du PFK pour obtenir une résolution de 5000 (FWHM) au  $m/z$  292,9824. Les indices de rétention linéaire (IRL) ont été obtenus par injection simultanée d'échantillons et d'une série d'alcanes (C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>, 40 mg/L dans l'hexane). Les expériences GC-O-TOF MS visant à établir des aromagrammes, ont été réalisées entre 10 et 60 minutes (n = 3). Les

expériences GC-TOF MS ont été réalisées sur le même système, la colonne connectée au port olfactif étant bouchée par un septum.

## 2.7. Purification des formes énantiomère de l'abhexone

Les énantiomères de l'abhexone n'étant pas disponibles dans le commerce, ils ont été obtenus par séparation du mélange racémique sur colonne chirale par HPLC préparative. Cette opération a été sous traitée par la société Chiral Technologie spécialisée dans la séparation à façon des composés chiraux.

La colonne préparative utilisée présente une phase stationnaire chirale de type Chiralpak® IH (6 µm – 250 x 30 mm). La phase mobile est du dichlorométhane (100 %). Le débit est de 42,5 ml/min, la température est maintenue constante durant la séparation à 25 °C. La détection des pics se fait par un détecteur UV à 255 nm. Les dimensions de la colonne analytique sont de 250 mm x 4,6 mm. Le débit est alors de 1 mL/min. Le détecteur est un DAD ( $\lambda = 240$  nm). L'échantillon est dilué dans le solvant de séparation avant injection (5 µL). Chaque analyse dure 25 min.

## 2.8. Quantification par GC MS/MS

### 2.8.1. Extraction des composés volatils pas extraction sur phase solide (SPE)

La méthode est inspirée des travaux de Thibon *et al.* (2015). En résumé, 20 mL d'échantillon de vin rouge sont extraits par extraction en phase solide sur un polymère hydrophobe polystyrène-divinylbenzène (Chromabond HR-X). Les composés volatils sont élués avec 3 ml de mélange de solvants pentane/dichlorométhane (50/50, v/v) puis 3 mL de dichlorométhane/méthanol (95/5, v/v). Les phases organiques obtenues sont mélangées et séchées avec du sulfate de sodium anhydre et concentrées à 150 µL sous flux d'azote.

### 2.8.2. Quantification de l'abhexone par GC-MS/MS

Les composés volatils sont analysés par un chromatographe en phase gazeuse Trace GC Ultra (Thermo Electron SAS, Courtaboeuf, France) couplé à un spectromètre de masse triple quadripôle TSQ Quantum XLS. La séparation GC est effectuée sur une colonne capillaire polaire Wax (polyéthylène glycol, 50 m × 0,25 mm × 1 µm) de chez Macherey-Nagel (Düren, Allemagne). Un échantillon de 1 µL est injecté via le passeur automatique (Triplus RSH auto-sampler) dans un injecteur programmable en température (split/splitless, temps de purge 1 min, débit 30 mL/min) et réglé comme suit : 0,3 min à 200 °C pendant 1 min, puis montée à 250 °C à 14 °C/min et maintien à cette température pendant 10 min. La température du four est réglée à 45 °C durant 1 minute, puis augmente jusqu'à 250 °C à 4 °C/min, pour être maintenue

à cette température pendant 10 minutes. La température de la ligne de transfert est fixée à 250 °C. Les paramètres de la source, y compris la température, l'énergie des électrons, le courant d'émission sont fixés respectivement à 230 °C, 70 eV, 50  $\mu$ A. Le gaz de collision est de l'argon (100 %, Messer Lenzburg, Suisse) et le spectromètre de masse était en mode EI (ionisation électronique). Pour chaque composé, l'ion précurseur ( $m/z$ ), l'ion produit ( $m/z$ ) et l'énergie de collision (V) ont été optimisés. Les transitions les plus intenses sont les suivantes : 3-octanol (101,0 ; 83,0 ; 10), abhexone (142,0 ; 97,0 ; 10). Le réglage de l'instrument, l'acquisition et le traitement des données ont été effectués à l'aide du logiciel Xcalibur (version 2.1.0). Le perfluorotri-n-butylamine (PFTBA) est utilisé pour la calibration en masse. Pour la séparation et l'analyse des formes énantiomères seules la colonne et la programmation du four ont été modifiées. Pour ce faire, nous avons sélectionné une colonne chirale (MEGA-DEX DAC Beta, 25 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu$ m) avec la programmation en température suivante : 45 °C durant 1 minute, puis 4 °C/min jusqu'à 180 °C et enfin 50 °C/min jusqu'à 230 °C, puis maintenu à cette température durant 10 minutes.

## 2.9. Analyse sensorielle

### 2.9.1. Analyse des fractions HPLC

L'ensemble des 50 fractions produites lors de la séparation des échantillons par HPLC a été caractérisé d'un point de vue sensoriel. Elles présentent des teneurs en éthanol croissantes de 0 % à 100 %. Aussi, le degré d'alcool de chacune d'entre elle a été ajusté à ~10 % vol par ajout d'éthanol ou dilution avec de l'eau ultra pure. Dans un second temps nous avons demandé à un panel de 3 personnes, membres du laboratoire, de générer librement des descripteurs olfactifs caractérisant chacune d'entre elles.

### 2.9.2. Détermination des seuils de détection olfactifs

La méthodologie que nous avons suivie correspond à celle décrite dans le Chapitre 3. Les échantillons sont présentés dans des verres INAO opaques et codés à l'aide d'un code aléatoire à trois chiffres selon une succession de tests à choix forcés (1 parmi 3, 3-AFC). L'augmentation de la concentration selon les échantillons est réalisée par multiple de deux (Tableau 20). La solution modèle utilisée est constituée de 12 % vol d'éthanol bi-distillé, 5 g/L d'acide tartrique avec un pH ajusté à 3,5 (NaOH, 1M). Le vin rouge utilisé est le V1, vin jeune de référence.

**Tableau 20.** Gamme de concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) retenue pour l'évaluation des seuils de détection olfactif de l'abhexone racémique et de chacun des énantiomères.

Composé	Milieu <sup>a</sup>	Unité	Nombre de juge	Concentration							
				C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
(R/S)-abhexone	SM	$\mu\text{g/L}$	12	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
	VR	$\mu\text{g/L}$	12	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
(R)-abhexone	SM	$\mu\text{g/L}$	12	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4	12,8
	VR	$\mu\text{g/L}$	12	0,313	0,625	1,25	2,5	5	10	20	40
(S)-abhexone	SM	$\text{ng/L}$	12	5	10	20	40	80	160	320	640
	VR	$\mu\text{g/L}$	12	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4

<sup>a</sup>SM solution modèle, VR vin rouge

### 2.9.3. Impact de l'ajout croissant du composé sur l'arôme d'un vin rouge par profils monadiques

Un vin rouge jeune (V1) a été supplémenté avec 5 concentrations croissantes du mélange racémique de l'abhexone, de 0,625  $\mu\text{g/L}$  à 10  $\mu\text{g/L}$ . Les cinq échantillons ainsi que le vin témoin ont été présentés à un panel de dégustateurs ( $n = 7$ ) membres du laboratoire. Nous avons demandé à l'ensemble des dégustateurs de réaliser un profil monadique afin de noter l'intensité des descripteurs : fruité, épicé, et curry sur une échelle non graduée de 0 à 10.

### 2.9.4. Réalisation du profil sensoriel d'un vin rouge en fonction de la qualité de l'obturateur

Afin de sélectionner des échantillons de vins impactés par la perméabilité de l'obturateur une analyse sensorielle a permis de comparer selon différents descripteurs. Le fruit frais ainsi que le végétal sont associés aux arômes retrouvés dans un vin jeune tel que le vin de référence utilisé (V1) tandis que la tonalité oxydée est retrouvée dans le cadre d'une évolution défectueuse et les notes mentholé ainsi que le caractère hédonique sont liés à l'évolution qualitative. Un vin du millésime 2006 (GV) bouché avec 2 obturateurs différents a donc été analysé. Les vins, codés avec un code à trois chiffre et présentés de manière aléatoire, ont été noté sur une échelle non graduée allant de 0 à 10. Chaque modalité a été analysée en duplicata biologique (deux bouteilles par modalité).

## 2.10. Analyses statistiques

La détermination des seuils a été réalisée à l'aide du logiciel de traitement de données Sigmaplot. Les analyses statistiques ont été effectuées par le logiciel XLSTAT. Les conditions d'application des tests statistiques ont préalablement été vérifiées. Dans ce cas, un test t ou une analyse de variance (ANOVA) suivie du test *post-hoc* de Tukey ont été appliqués. Pour l'ensemble des tests, le risque  $\alpha$  a été fixé à 5 %.

### 3. Résultats

#### 3.1. Caractérisation de l'évolution des vins rouges en lien avec la perméabilité à l'oxygène des obturateurs

##### 3.1.1. Sélection des vins

Les échantillons de vin rouge que nous avons sélectionnés ont été conservés en bouteille bouchées par deux types d'obturateur. Les résultats de l'analyse sensorielle de ces vins après 12 ans de conservation en bouteille sont présentés dans le

Tableau 21. Nous montrons que le même vin rouge bouché par deux types d'obturateurs présente des équilibres olfactifs très différents. Le vin bouché par l'obturateur le moins perméable (Diam A) présente les notes d'intensité de fruit frais du bouquet les plus intenses. A l'inverse le vin bouché par l'obturateur le plus perméable (Synt) est perçu comme le plus oxydé. L'analyse sensorielle de ces vins confirme notre sélection. Par conséquent ils pourront servir au travail de caractérisation.

**Tableau 21.** Evaluation de l'intensité des descripteurs fruits frais, végétal, oxydé et bouquet pour le vin de Graves du millésime 2006 conservés selon deux types d'obturateurs.

Obturateur	Code	OTR <sub>T0</sub> (mg/an)	Descripteurs							
			Fruits frais	<i>p</i>	Végétal	<i>p</i>	Oxydé	<i>p</i>	Bouquet	<i>p</i>
Diam A	GV1	0,3	3,82 (0,75)	*	1,41 (0,08)	ns	1,29 (0,45)	*	4,62 (0,70)	*
Synt	GV2	4,6	0,81 (0,02)		1,09 (0,22)		7,22 (0,57)		1,14 (0,16)	

Les nombre entre parenthèse correspondent aux écart-types. \* *P-value* <0,05 (test de Student), n=7.

##### 3.1.2. Recherche et caractérisation des zones odorantes associées à l'évolution des vins rouges en fonction de la perméabilité en oxygène de l'obturateur

Les échantillons de vin GV1 bouché par l'obturateur Diam A et GV2 bouché par l'obturateur Synt ont été extrait par du dichlorométhane. Un vin rouge jeune (VR) fait également partie de notre sélection.

###### 3.1.2.1. Caractérisation moléculaire des vins par GC-O

Dans un premier temps, les échantillons ont été analysés par GC-O sur une colonne polaire (BP20). Pour l'ensemble des trois vins, les aromagrammes obtenus contenaient un nombre important de zones



odorantes (ZO) (~60) dont certaines sont retrouvées à la fois dans le vin jeune, le vin vieux oxydé et celui développant un bouquet. D'autres, au contraire semblent spécifiques ou tout au moins sont perçues de façon plus intense par le jury en fonction des trois vins (Tableau 22). Parmi l'ensemble des zones odorantes mises en évidence par GC-O pour chaque échantillon, dix d'entre elles présentent des niveaux d'intensité et de distribution spécifiques. Par exemple, c'est le cas des ZO « fumé, boisé, poussiéreux » (IRL 2162), « plastique fondu » (IRL 2168) retrouvées spécifiquement dans le vin développant un bouquet, ou encore la ZO « curry, viandox » dont l'intensité est plus importante dans ce vin comparée à celle perçue dans le même vin ayant subi une évolution oxydative de ses arômes.

**Tableau 22.** Distribution des zones odorantes détectées par GC-O permettant de discriminer les trois modalités (V1, GV1, et GV2) (n = 3).

TR <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	Descripteurs olfactifs <sup>c</sup>	Intensité de perception des zones odorantes <sup>d</sup>		
			Vin jeune (1 an)		Vin vieux (12 ans)
			Vin non oxydé	Vin non oxydé	Vin oxydé
			V1	GV1	GV2
19.05	1327	Champignon de paris, soupe crémeux	-	++	-
24.42	1455	Nuance noisette,	-	++	+
27.91	1543	Géranium, boisé, papier maché	-	++	-
28.87	1568	Artichaut, radis, navet	-	+	-
29.00	1571	Animal	-	++	+
50.16	2131	Cheval, phénolique, écurie	+	++	++
51.35	2162	Fumé, boisé, poussiéreux	-	+	-
51.59	2168	Plastique fondu	-	+	-
53.59	2220	Phénolique, fumé, bacon	-	+	+
54.11	2234	Curry, bouillon cube, sauce soja, brulé	-	++	+

<sup>a</sup> Temps de rétention. <sup>b</sup> Indice de rétention (BP20). <sup>c</sup> Descripteurs olfactifs générés par un jury de trois personnes. <sup>d</sup> Intensité moyenne de perception : non détecté (-), faible (+) et forte (++)

Par la suite, les extraits organiques de vins ont été analysés par GC-O-TOF MS. Cependant, malgré l'intensité des ZO, la complexité du chromatogramme au temps de rétention de la ZO n'a pas permis l'identification des composés associés. Par conséquent, une étape intermédiaire de fractionnement de nos échantillons par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a été initiée.

### 3.1.2.2. Mise en évidence de fractions d'intérêt par fractionnement HPLC

L'utilisation de la chromatographie liquide pour fractionner et simplifier la composition des extraits organiques de vin a largement fait ses preuves dans le domaine de la chimie de arômes (Ferreira *et al.*, 1999). Les résultats du flirage de chacun des extraits organiques des trois vins (VR, GV1 et GV2) sont présentés dans le Tableau 23.

L'analyse de l'ensemble des fractions révèle une très grande diversité aromatique retrouvée à la fois dans les fractions de l'extrait du vin jeune et des deux vins vieux. Rares sont les fractions développant des odeurs similaires aux trois échantillons seuls la F18 (« pomme de terre ») semble invariablement retrouvée. Cette observation reste en adéquation avec la diversité aromatique des vins en lien avec leur évolution respective. Les descripteurs appartiennent à différentes familles d'odeur rappelant le fruité, l'empyreumatique, le floral, le chimique ou encore le boisé.

Une des fractions du vin de 12 ans non oxydé (GV1), la F24, a retenu notre attention pour sa complexité et l'expression d'un mélange subtil de notes épicées, de noisette, de chocolat et de torréfaction. Elles évoquent celles des vieux vins rouges développant un bouquet de vieillissement. Cette fraction a été extraite puis analysée par GC-O-TOF MS.

**Tableau 23.** Caractérisation sensorielle des différentes fractions générées par HPLC des extraits organiques des trois vins rouges (V1, GV1 et GV2) (n = 3).

Fraction	V1	GV1	GV2
01 à 14	-	-	-
15	Beurre, crème	Beurre	Beurre
16	-	Herbacé	Girofle, vineux
17	Torréfié	Torréfaction	Epicé
18	Champignon, pomme de terre bouillie	Pomme de terre bouillie	Pomme de terre bouillie
19	Sueur, croute de fromage	Pomme de terre bouillie	Terre, foin, herbacé
20	Animal mouillé	Fruité	Dissolvant
21	Floral, sueur	Agrumes, dissolvant	Dissolvant, fromage
22	Fleur blanche	-	-
23	Fleur Blanche	Gâteau, madeleine	Dissolvant
24	Gateau au chocolat	Complexe, épice, patissier, noisette, chocolat	Torréfaction, gateau au chocolat
25	Solvant, noisette pourrie	Phénolé, chocolat noir	Chocolat noir
26	Gourmand, noisette cuite,	Épicé, phénolé, musc	Fumé, phénolé
27	Cuir	Médicinal, camphré	Musc, vinaigre
28	Sueur, croute de fromage	Floral, jasmin	Médicinal, vinaigre
29	Sueur, herbacé, terreux	Floral, lourd, herbe fraiche	Eau de rose
30	Herbacé, solvant	-	Fleur blanche, géranium
31	Solvant, sciure	Poivre	Jasmin, sueur
32	Solvant, sciure	Sueur, pamplemousse	Herbacé, fume, phénolé
33	Chimique, dissolvant	Ananas, fleur d'oranger	Zest d'agrumes, noix de coco
34	Melon, fraise, liqueur	Fruité, zest d'orange	Zest d'agrumes
35	Pamplemousse	Fruité	Fumé, phénolé
36	Fruits mur	Fruité, fraise	Fraise, kiwi
37	Fraise, melon, ananas, coco	Fruité, noix de coco	Mentholé, noix de coco
38	Epicé	Bourgeon de cassis	Cuir, fumé
39	Cuir, musc, radis	Pêche, fraise	Fraise écrasée
40	Mentholé, chimique	-	Poivron vert, boisé
41	Chimique	Herbacé	Fromage rance, sueur
42	-	Liqueur de framboise	Bourgeon de cassis, aillacé
43	Frais, herbacé	Peinture, colle	Papier plastique
44	Poivre, herbacé	Solvant	Camphré, mentholé
45	-	Solvant	Anisé, mentholé
46 à 50	-	-	-

### 3.1.3. Caractérisation de la fraction F24

#### 3.1.3.1. Identification d'une ZO d'intérêt

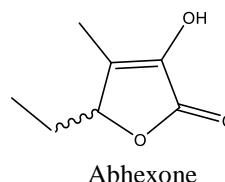
L'examen de la fraction d'intérêt F24 par GC-O-TOF MS, nous a permis de mettre en évidence entre 32 et 45 ZO en fonction du vin analysé sur colonne polaire (BP20) et entre 25 et 31 ZO sur colonne apolaire (BPX5). L'analyse comparative des aromagrammes obtenus pour deux les types d'obturateurs GV1 et GV2 a permis de montrer leurs fortes similitudes. Pour autant, une zone odorante (Tableau 24) retenue notre attention de part son intensité, rappelant un caractère épicé, le bouillon cube Maggi ® ainsi que les notes de curry. Traditionnellement, les chercheurs en œnologie attribuent cette note curry au sotolon (3-hydroxy-4,5-diméthylfuran-2(5H)-one) (Figure 28).

Cependant, l'analyse de l'extrait organique par GC-TOF MS ne nous a pas permis de mettre en évidence un pic chromatographique correspondant au temps de rétention de cette ZO. Nous avons comparé ses indices de rétention linéaire (IRL) sur colonne polaire et apolaire, à ceux retrouvés dans la littérature (Tableau 24). Ces investigations nous ont amené à identifier dans les vins rouges le 5-éthyl-3-hydroxy-4-méthylfuran-2(5H)-one (abhexone).

**Tableau 24.** Identification de la zone odorante ZO1 rappelant le curry du sotolon.

Colonne	Zone odorante descripteur	IRL calculé	IRL littérature <sup>c</sup>	$\Delta_{\text{IRL}}$	Descripteurs littérature	Intensité Z0 <sup>d</sup>	
						GV1	GV2
BP20 <sup>a</sup>	Bouillon Maggi®, curry	2235	2250	15	Curry	++	+
BPx5 <sup>b</sup>	Bouillon Maggi®, curry	1185	1198	13	Curry	++	+

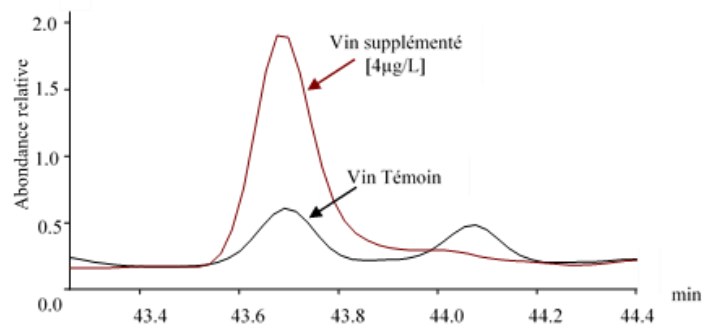
<sup>a</sup> BP20 (50 m × 0.25 mm, 0.25). <sup>b</sup> BPx5 (50 m × 0.25 mm, 0.25). <sup>c</sup> Schnermann & Schieberle, 1997. <sup>d</sup> Intensité de la perception : non détecté (-), faible (+) et forte (++) . (n = 3).



**Figure 28.** Structure chimique du sotolon et de l'abhexone

### 3.1.3.2. Validation de l'identification de l'abhexone dans les vins rouges

L'identification de l'abhexone a été validée par analyse en GC-MS/MS de l'extrait organique purifié par HPLC dopé avec 4 µg/L du produit standard commercial (Figure 29).



**Figure 29.** Exemple de chromatogrammes obtenus en GC-MS/MS (SRM,  $m/z$  142→97) lors de l'analyse du vin GV1 seul et dopé avec 4 µg/L d'abhexone (standard commercial).

L'abhexone est un composé odorant d'impact dans le domaine de la chimie des aliments et des boissons. Ce dérivé alkyl du sotolon a été identifié pour la première fois dans des protéines de soja hydrolysées dans les années 1980 (Manley *et al.*, 1980), puis dans le café (Semmelroch *et al.*, 1995), le chocolat (Schnermann & Schieberle, 1997), le seigle (Kirchhoff & Schieberle, 2002), dans les framboises (Klesk *et al.*, 2004), ou encore dans le sirop d'érable (Ball, 2007). Il est également connu pour contribuer à l'arôme de certains vins. Par exemple, ses concentrations peuvent atteindre plus de 7 µg/L après 5-6 ans de conservation dans les vins de pourriture noble de Sauternes (Bailly *et al.*, 2009) ou encore dans les vins du Jura (Collin *et al.*, 2012). Ce composé a également été identifié dans des vins des chardonnay (Buettner, 2004), ou encore des vins rouges de syrah (Raposo *et al.*, 2016). Plus récemment il a également été quantifié à des teneurs supérieures à son seuil de perception et augmentant au cours de la conservation de bières sans alcool (Simon *et al.*, 2023).

S'agissant des mécanismes de formation de cette furanone, les connaissances relatives à son origine restent peu robustes. Toutefois, au regard des similarités entre les structures chimiques du sotolon et l'abhexone illustrée dans la Figure 28. Collin *et al.* (2012) ont formulé une hypothèse impliquant des mécanismes oxydatifs à partir de l'aldocondensation entre le propanal et l'acide 2-cétobutyrique.

## 3.2. Etude de la distribution et de l'impact sensorielle de l'Abhexone

### 3.2.1. Développement et validation d'une méthode de dosage dans les vins rouges

Inspiré de travaux précédents (Thibon *et al.*, 2015), nous avons optimisé et validé les paramètres de quantification en GC-MS/MS. L'injection du standard en mode scan, nous a permis dans un premier temps de repérer le temps de rétention. Les paramètres de détection ont ensuite été optimisés permettant d'obtenir le meilleur rapport signal sur bruit. La méthode finale a été validée en termes de linéarité, répétabilité, justesse, et de sensibilité (Tableau 25).

Le niveau de linéarité est satisfaisant ( $R^2 > 0.99$ ) pour une gamme de concentrations comprises entre 0,25 et 16  $\mu\text{g/L}$ . Les mesures de répétabilité, de justesse ainsi que les limites de détection et de quantification, ont été évaluées par l'analyse répétée ( $n = 5$ ) d'un même vin jeune (2020) mais également d'un vin du millésime 2006. La répétabilité et la justesse ont été estimées pour un vin jeune dont la concentration en abhexone a été ajustée à 4  $\mu\text{g/L}$ . Le coefficient de variation (CV) permettant de rendre compte de la répétabilité de la mesure, est inférieur à 7 %. La qualité de la justesse a été validée pour des valeurs calculées inférieures à 1. Enfin, les mesures de limite de détection et de quantification calculer par la mesure du signal sur bruit, sont en moyenne proche de 6 ng/L.

**Tableau 25.** Paramètres analytiques et résultats de la validation de la méthode de quantification de l'abhexone dans les vins rouges par GC-MS/MS.

Composé	MS/MS méthode			Gamme ( $\mu\text{g/L}$ )	$R^2$	CV (%) <sup>d</sup> 4 $\mu\text{g/L}$		E  <sup>e</sup>		LOD ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>f</sup>		LOQ ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>g</sup>		
	IP <sup>a</sup>	IQT <sup>b</sup>	IQL <sup>c</sup>			vin	vin	vin	vin	vin	vin	vin	vin	vin
						jeune	vieux	jeune	vieux	jeune	vieux	jeune	vieux	
Abhexone	142	97 (10) <sup>h</sup>	113 (15) <sup>h</sup>	0,25 - 16	0,998	6,04	4,56	0,37	0,26	0,002	0,002	0,005	0,006	

<sup>a</sup> Ion parent. <sup>b</sup> Ion quantification. <sup>c</sup> Ion qualitatif. <sup>d</sup> Coefficient de variation ( $n = 5$ ). <sup>e</sup> Erreur de justesse. <sup>f</sup> Limite de détection. <sup>g</sup> Limite de quantification. <sup>h</sup> Energie de collision (V).

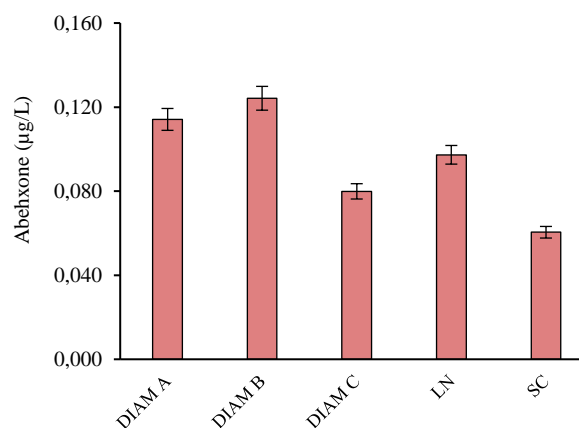
### 3.2.2. Etude de la distribution dans les vieux vins rouges

Une fois la méthode validée, nous avons quantifié l'abhexone dans différents vins rouges de différents millésimes et conservés dans des conditions variables d'apport en oxygène.

### 3.2.2.1. Impact du type de vin et de l'obturateur

Dans un premier temps, nous avons quantifié les concentrations en abhexone dans un vin rouge du millésime 2006 bouché par différents types d'obturateurs : des bouchons en liège microaggloméré (Diam, A, B, C) de niveau d'OTR croissant, un bouchon synthétique perméable à l'oxygène et un bouchon en liège naturel. Les résultats présentés dans la Figure 30, révèlent que les teneurs moyennes en abhexone sont comprises entre 60 ng/L et 125 ng/L. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les modalités bouchées avec des obturateurs les moins perméables à l'oxygène. Ces résultats analytiques confirment ceux obtenus précédemment par GC-O (Tableau 24). Pour autant, cette distribution est surprenante au regard des mécanismes de formation retrouvés dans la littérature. En effet, la présence d'une quantité suffisante de propanal libre, c'est-à-dire non combinée au SO<sub>2</sub> ou aux composés phénoliques, est souvent associée à un état d'oxydation avancé du vin.

Dans notre situation il semble que ce soit l'inverse. Par conséquent, s'il s'avère que ces premières observations sont confirmées, d'autres mécanismes de formation de cette furanone pourraient expliquer sa formation au cours du vieillissement des vins rouges.



**Figure 30.** Concentrations en abhexone déterminées par GC-MS/MS (SRM,  $m/z$  142  $\rightarrow$  97) dans un vin rouge du millésime 2006 et bouchés par différents types d'obturateur (n = 2).

Il est à noter que les teneurs en abhexone retrouvées dans ces vins rouges sont faibles en comparaison de celles retrouvées dans les vins blancs issus de raisins botrytisés  $\sim 7$  µg/L (Bailly *et al.*, 2009).

### 3.2.2.2. Impact de la durée de conservation

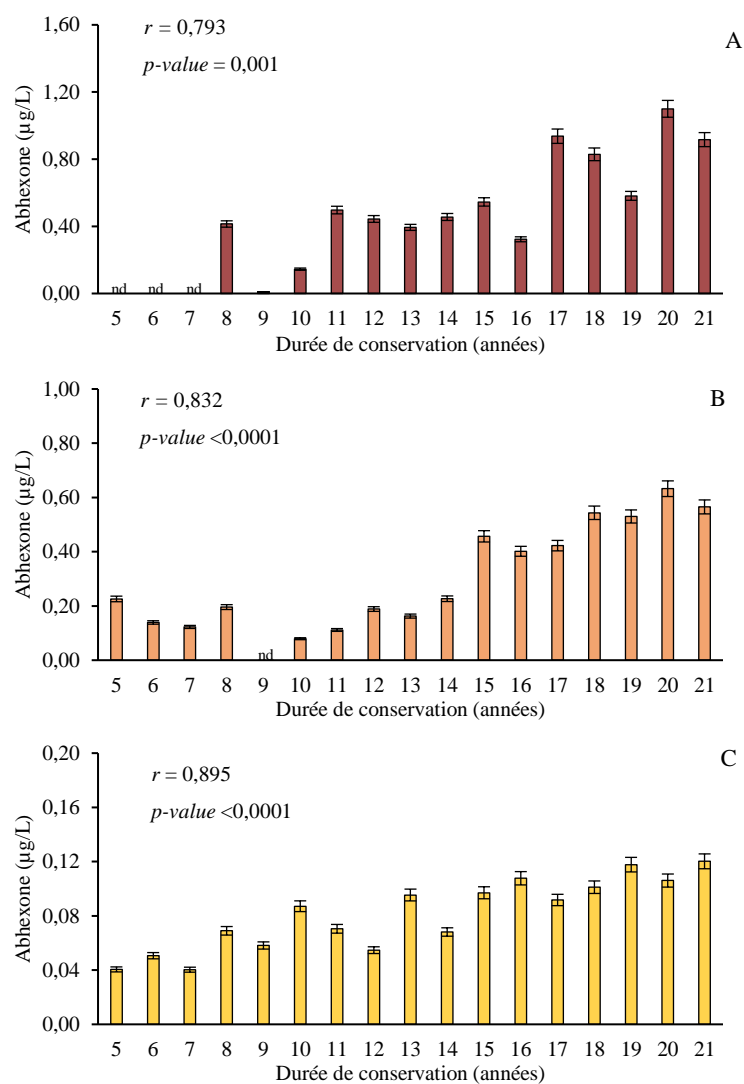
Cette étude a été menée en collaboration avec trois crus situés en Toscane (Italie, IT), à Pauillac (Bordeaux, P) ainsi que dans la Napa Valley (Californie, NV). L'abhexone a été quantifiée dans ces vins de carbernet sauvignon pour une série de millésimes consécutifs compris de 2000 à 2016 pour les vins IT et NV et de 2000 à 2013 pour le vin PA, soit des vins ayant connus un vieillissement en bouteille de plus de 20 ans.

Dans un premier temps, nous avons comparé les teneurs en abhexone des différents crus analysés. Les teneurs retrouvées dans le vin de Toscane quantifiées sont comprises entre 124 ng/L et 120 ng/L. S'agissant du vin de Californie elles comprises entre 79 et 632 ng/L et de 10 à 1100 ng/L pour le cru de Pauillac. Une analyse des variances (ANOVA) suivi d'un test post-hoc de Tukey révèlent des différences significatives entre les trois vins :  $P > NV > IT$  ( $p\text{-value} < 0,0001$ ). Ces premiers résultats confirment l'influence du cru sur les teneurs en abhexone.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'évolution des teneurs en abhexone en fonction du millésime (Figure 31). Pour les trois vins, les teneurs en abhexone augmentent avec la durée de conservation en bouteille :  $r = 0,793$  ( $p\text{-value} = 0,001$ ) pour le vin P,  $r = 0,832$  ( $p\text{-value} < 0,0001$ ) pour le vin NV. En dépit d'une amplitude de concentration plus faible, cette même tendance est observée avec le vin d'Italie ( $r = 0,895$ ,  $p\text{-value} < 0,0001$ ).

Malgré ces différences de cinétiques assimilées à la composition du vin en lien avec la composition du raisin, ces résultats montrent que l'augmentation de la concentration de l'abhexone est fortement corrélée avec la durée de conservation des vins. Aussi, il devient très vraisemblable que les mécanismes chimiques décrits dans la littérature pour expliquer sa présence dans les vins blancs soient quelque peu différents dans les vins rouges.





**Figure 31.** Quantification de l’abhexone par GC-MS/MS (SRM,  $m/z$  142→97) dans les vins de Pauillac (A), Napa Valley (B) et d’Italie (C) pour les millésimes 2000-2016 (nd non déterminé, n = 2).

### 3.2.3. Mesure de l’impact sensoriel de l’abhexone dans les vins rouges

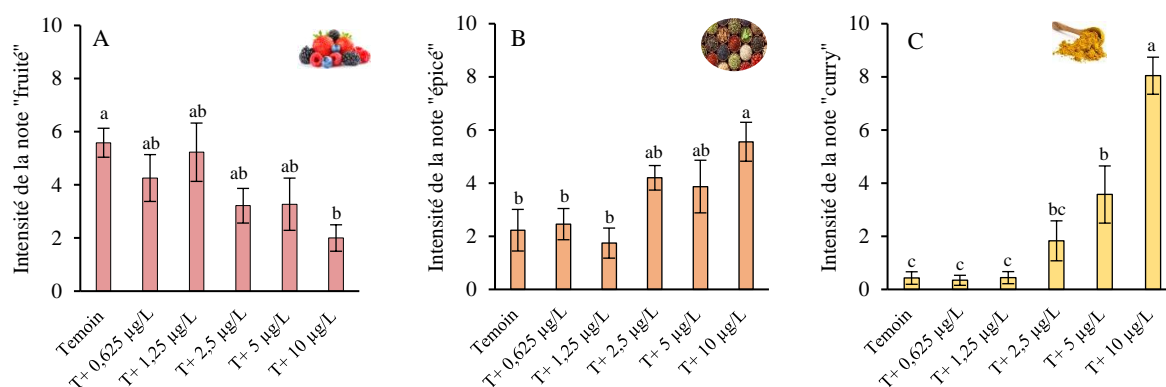
En chimie des arômes, l’identification d’un composé odorant implique la détermination des seuils de perception afin de valider son impact sensoriel. Pour cela, nous avons réalisé les seuils de l’abhexone à la fois en solution modèle mais également dans un vin rouge.

#### 3.2.3.1. Impact de l’augmentation des teneurs en abhexone sur la perception sensorielle des vins

Dans un premier temps nous avons déterminé le seuil du mélange racémique. Nous montrons qu’en solution modèle il est de 0,43 µg/L et de 0,8 µg/L dans un vin rouge jeune.

Pour aller plus loin dans l’évaluation de l’impact sensoriel de l’abhexone dans les vins rouges nous avons réalisé des essais de supplémentation de ce composé à un vin rouge jeune (2020). Il était demandé

au jury de noter l'intensité de trois descripteurs : la perception du fruité, les tonalités épicées ainsi que les notes de curry. Les résultats présentés dans la Figure 32 montrent une diminution significative de l'intensité du descripteur fruité au profit des tonalités épicées et curry selon la concentration en abhexone. Ces modifications interviennent pour les teneurs les plus élevées : 10 µg/L pour le « fruité », à partir de 5 µg/L pour la tonalité « curry » et 2,5 µg/L pour la tonalité « épicée ». Sur la base de ces informations il semble que l'abhexone ne peut contribuer directement à l'arôme des vins rouges que nous venons d'analyser. En revanche, il est fort probable qu'elle puisse contribuer, via des phénomènes d'interactions perceptives à l'arôme des vins issus des millésimes les plus anciens.



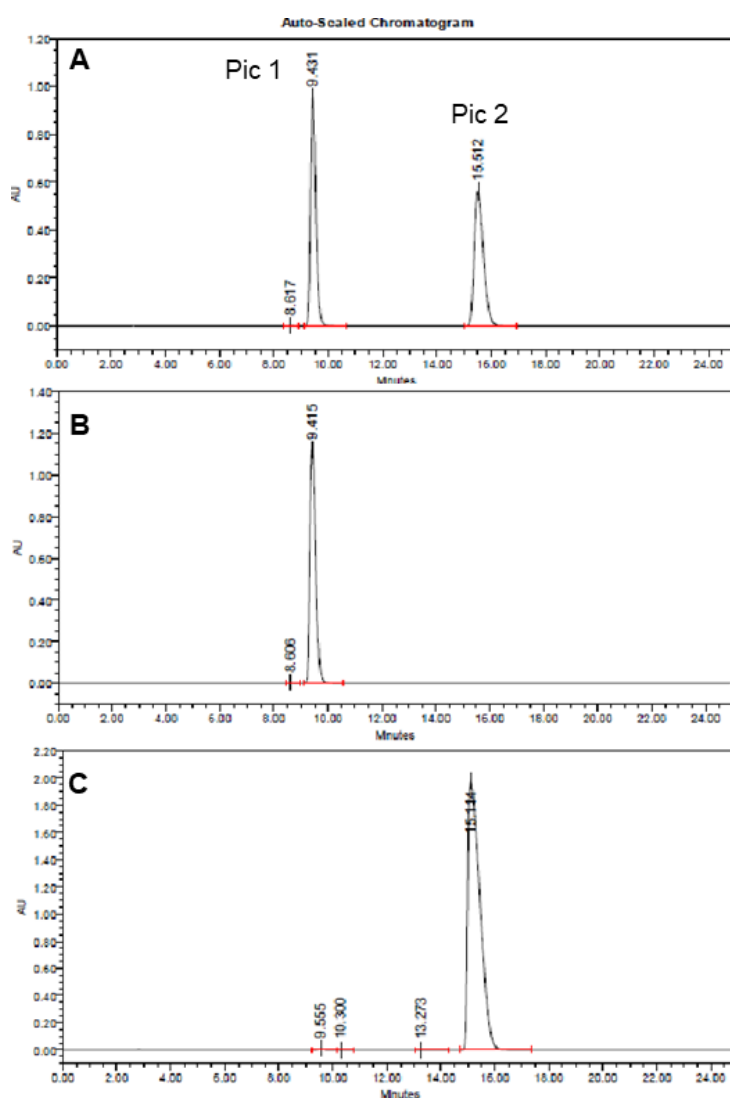
**Figure 32.** Impact de l'ajout de quantités croissantes de l'abhexone sur la perception des caractères fruité (A), épicé (B) et curry (C) d'un jeune vin rouge (ANOVA, post hoc test de Tukey sur les données centrées réduites,  $p$ -value < 0,05) ( $n = 7$ ).

### 3.3. Etude des énantiomères de l'abhexone

S'inspirant des résultats obtenus sur les énantiomères du sotolon (Pons *et al.*, 2008), la présence d'un centre asymétrique sur la structure de l'abhexone nous a amené à nous intéresser aux propriétés sensorielles de ses énantiomères. En effet, le seuil de perception d'un composé odorant et le descripteur qui lui est associé peuvent différer selon le stéréoisomère considéré, c'est pourquoi il nous a semblé important de connaître la répartition des deux formes *R* et *S* de l'abhexone dans les vins pour évaluer leur impact organoleptique.

### 3.3.1. Séparation des énantiomères par HPLC préparative

Les énantiomères de l'abhexone ne sont pas disponibles dans le commerce. Nous avons fait appel à un laboratoire spécialisé dans l'analyse chirale pour nous fournir chacun des énantiomères à partir du fractionnement de l'abhexone commerciale. Le profil de séparation de l'abhexone commerciale racémique par HPLC sur colonne chirale est présenté en Figure 33. Après séparation, chaque énantiomère présente un excès énantiomérique supérieur à 99,5 % (mesuré à 240 nm). Ces résultats ont été confirmés par GC-MS sur colonne chirale. La qualité des produits nous a permis de pouvoir déterminer leurs propriétés sensorielles.

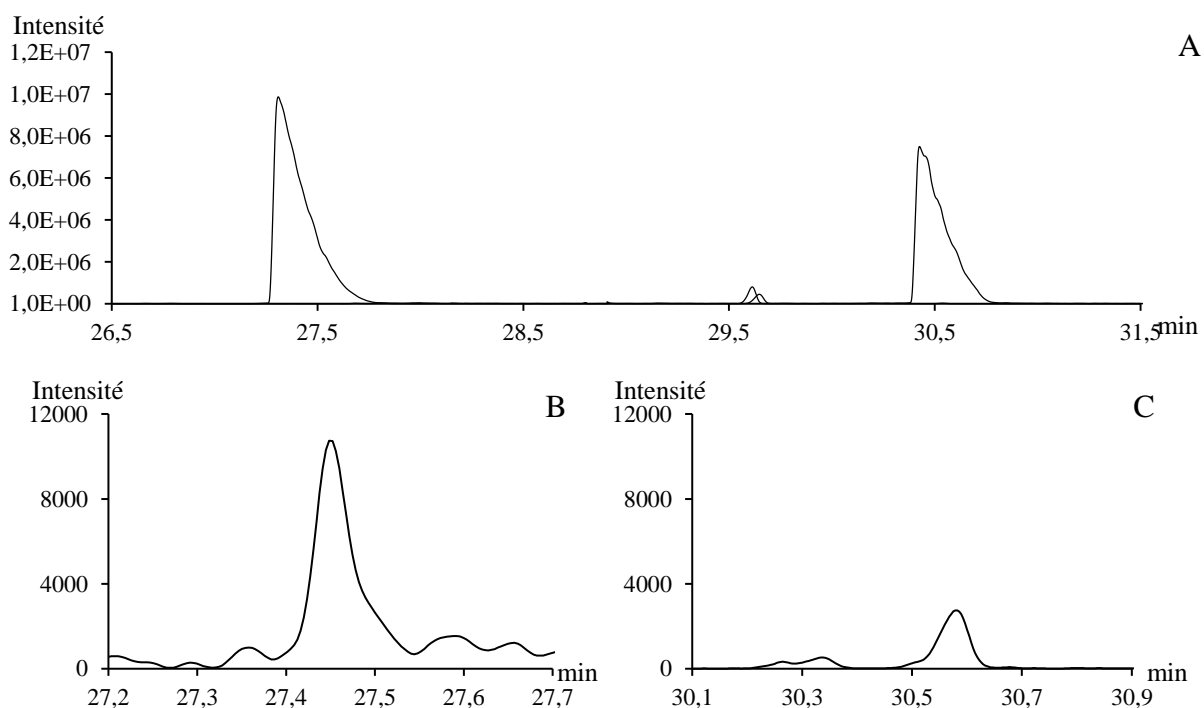


**Figure 33.** Illustration de la qualité de résolution des pics chromatographiques obtenus par la séparation des énantiomères de l'abhexone commercial racémique sur colonne chirale par HPLC-UV (pic 1 : 9.4 min, pic 2 : 15,5 min ; colonne analytique Chiralpak® IH, DAD  $\lambda = 240$  nm). Chromatogramme du produit commercial (A), du pic 1 (B), du pic 2 (C) après collecte des pics par HPLC préparative.

### 3.3.2. Méthode de séparation et de quantification

Les conditions chromatographiques sont celles optimisées pour la séparation du sotolon décrites par (Pons *et al.*, 2008). Comme pour ce dernier une attention particulière a été portée au choix de la phase chirale et à la température de l'injecteur. Concernant la phase, nous avons montré lors de précédentes études qu'une phase composée de  $\beta$ -cyclodextrine permettait de séparer complètement les énantiomères du sotolon.

Dans le cadre de cette étude nous avons porté notre choix sur une phase de type diacetyl terbutylsilyl- $\beta$ -cyclodextrine de chez Mega (Italie). Comme illustré en Figure 34, cette colonne permet d'assurer la séparation complète des deux énantiomères de l'abhexone, la résolution des pics est satisfaisante ( $R = 7.7$ ). Nous montrons que l'abhexone commerciale n'est pas totalement racémique elle présente un léger excès de l'un de ses énantiomères ( $R/S$ , 57/43). La température de l'injecteur programmable en température (PTV) est ajustée à 160 °C lors de l'injection puis augmente dans un second temps jusqu'à 250 °C. Cette précaution permet d'éviter la racémisation partielle de cette furanone dans l'injecteur.



**Figure 34.** Séparation des énantiomères de l'abhexone sur colonne chirale (diacetyl terbutylsilyl- $\beta$ -cyclodextrine) en GC-MS/MS. (A) Forme racémique commerciale (mode Scan), (B) et (C) dans un vin rouge âgé pour chacun des deux énantiomères (mode SRM).

### 3.3.3. Evaluation des propriétés sensorielles de l'abhexone

Le seuil de perception de la forme *S* en solution hydroalcoolique est de 0,22 µg/L, il est de 2,3 µg/L pour la forme *R* (Tableau 26). La forme *S* est 10 fois plus odorante que la forme *R*. Ces résultats rappellent ceux obtenus par Pons *et al.* (2008) qui montraient les différences d'intensité entre les énantiomères du sotolon : 89 µg/L pour la forme *R* et 0,8 µg/L pour la forme *S*. Le (*S*)-sotolon est cent fois plus odorant que le (*R*)-sotolon. Il semblerait que l'allongement de la chaîne alkyle de cette lactone insaturée augmente l'intensité odorante du composé tout en diminuant les différences d'intensité entre chacun d'entre eux.

A notre connaissance, l'impact sur les seuils de détection des énantiomères des lactones est très peu étudié dans la littérature. En ce sens, notre travail contribue à améliorer nos connaissances sur les propriétés olfactives de ces composés.

La forme *S* de l'abhexone lui confère une grande partie de ses propriétés organoleptiques. Au regard des premiers résultats obtenus relatifs à l'évolution de la forme racémique de l'abhexone au cours du vieillissement, ce composé pourrait contribuer à l'arôme de certains vieux vins. Toutefois, cette conclusion est suspendue à la connaissance de la distribution des énantiomères dans les vins.

**Tableau 26.** Seuils de perception et descripteurs olfactifs des énantiomères de l'abhexone dans solution modèle et dans un vin rouge.

	Solution modèle		Vin rouge
	Seuil de perception (µg/L)	Descripteur	Seuil de perception (µg/L)
Pic 1 ( <i>R</i> ) <sup>a,b</sup>	2,3	Curry, boisé, vanillé	10
Pic 2 ( <i>S</i> ) <sup>a,b</sup>	0,22	Curry	1,2
Racémique <sup>c</sup>	0,43	Curry	0,8

<sup>a</sup> Attribution de la configuration sur la base de la similarité entre l'ordre d'éluion des pics chromatographiques de l'abhexone sur colonne β-cyclodextrine à ceux des énantiomères du sotolon (Pons *et al.*, 2008). <sup>b</sup> n = 12. <sup>c</sup> n = 21.

### 3.3.4. Détermination des énantiomères de l'abhexone dans les vins

#### 3.3.4.1. Discussion sur la détermination de configuration absolue des énantiomères de l'abhexone

L'attribution de chacun des pics chromatographiques obtenus en GC-MS/MS ne peut se faire sans la connaissance précise des propriétés optiques de chacun d'entre eux. Pour ce faire, il est indispensable de pouvoir mesurer par polarimétrie le pouvoir rotatoire de chacun des énantiomères. Ces valeurs seront ensuite comparées à celles correspondant à la configuration absolue du composé, décrites dans la

littérature. Une autre stratégie consiste à analyser chacun des échantillons par dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD). Cette dernière technique étant adossée à des calculs de chimie théorique (König *et al.*, 1999). Malheureusement, nous n'avons pas pu réaliser ces mesures.

En revanche, les travaux antérieurs réalisés au laboratoire sur l'étude de la distribution du sotolon nous ont permis de caractériser chacun des énantiomères du sotolon. Nous connaissons leur ordre d'élution sur une colonne chirale de type  $\beta$ -cyclodextrin : la forme *R* est éluée en premier. Comme nous allons le voir, l'évaluation des propriétés sensorielles de chacun des pics semble confirmer cette hypothèse.

### 3.3.5. Distribution des énantiomères de l'abhexone dans les vins rouges

La qualité de la séparation des énantiomères de l'abhexone et la spécificité des transitions retenues en GC-MS/MS permet de déterminer leur distribution dans les vins rouges (Figure 34).

Nous avons sélectionné 17 millésimes consécutifs de deux crus (Tableau 27). L'un est issu de l'appellation Pauillac (PA) tandis que l'autre (NV) provient de la Napa Valley en Californie (USA). Tous deux sont élaborés à partir du cépage cabernet sauvignon. Les vins ont été extraits puis analysés sur colonne chirale.

**Tableau 27.** Distribution des énantiomères de l'abhexone et détermination de l'excès énantiomérique pour une série de millésimes consécutifs (2000 – 2016) d'un cru de l'appellation Pauillac (PA) et de la Napa Valley (NV, Californie).

Millésimes	Vin PA <sup>a</sup>			Vin NV <sup>a</sup>		
	Pic 1 (%)	Pic 2 (%)	Excès énantiomérique (%)	Pic 1 (%)	Pic 2 (%)	Excès énantiomérique (%)
2000	94	6	88	90	10	80
2001	96	4	93	89	11	77
2002	92	8	85	97	3	94
2003	85	15	70	80	20	60
2004	75	25	50	79	21	57
2005	84	16	67	92	8	84
2006	84	16	68	79	21	57
2007	86	14	72	75	25	50
2008	91	9	82	91	9	82
2009	90	10	80	87	13	74
2010	79	21	57	89	11	78
2011	80	20	60	97	3	93
2012	87	13	75	96	4	91
2013	79	21	58	88	12	77
2014	na	na	-	87	13	74
2015	na	na	-	92	8	85
2016	na	na	-	90	10	80

na : Non analysés. <sup>a</sup> analyses effectuées en 2023.

Nous montrons que pour les deux séries d'analyse, la forme *R* supposée est souvent retrouvée en excès quel que soit le cru et la durée de vieillissement. L'excès énantiomérique de la forme *R* est compris entre 50 % et 94 % et laisse présager un mécanisme de formation stéréospécifique. Ce résultat est surprenant au regard du mécanisme de formation proposé dans la littérature. En effet, la réaction d'aldococondensation du propanal et de l'acide  $\alpha$ -cétobutyrique permet d'expliquer uniquement la forme racémique.

Nous nous retrouvons dans une situation proche de celle rencontrée pour expliquer la distribution des énantiomères du sotolon dans les vins blancs secs. La grande différence demeurant dans la régularité des observations. En effet, la distribution des énantiomères du sotolon dans les vins blancs est variable d'un vin à l'autre, ce qui ne semble pas être le cas pour l'abhexone.

Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer la présence de la (*R*)-abhexone dans les vieux vins rouges. La première se base sur des travaux de chimie organique démontrant qu'il est possible d'orienter une réaction d'aldolisation par des catalyseurs chiraux dérivés de proline (Vincent *et al.*, 2007). Cependant les rendements de ces réactions sont fortement affectés par la présence d'eau. Par ailleurs, au regard de la structure chimique de l'abhexone, il n'est pas exclu qu'une forme glycosylée puisse exister dans les raisins et les vins. Cette hypothèse mériterait d'être exploitée car elle permettrait d'expliquer la présence de l'abhexone sous forme énantiomériquement pur au cours du vieillissement.

Ces voies impliquent la formation de la (*R*)-abhexone de façon stéréospécifique, qui à la faveur d'un long vieillissement et d'une composition particulière du vin pourrait s'isomériser de façon plus ou moins rapide.

En effet, lors des travaux réalisés sur la cinétique de racémisation des énantiomères du sotolon, Pons *et al.* (2008) avaient pu montrer l'impact du pH sur cette dernière. Plus le pH est bas plus cette cinétique est rapide. Le sotolon énantiomériquement pur passe par une furanone (aromatique), qui en milieu acide se protone pour former une forme racémique du sotolon. En condition du laboratoire, les conclusions de cette étude révélaient que ce phénomène était lent et qu'il fallait à peu près 9 mois pour que le sotolon optiquement pur se retrouve sous forme racémique en solution hydroalcoolique (pH 3,5, 20 °C). Le pH des vins rouges étant souvent supérieur à celui des vins blancs, compris en moyenne entre 3,6 et 4,0, il est probable que cette cinétique soit plus lente.

## 4. Conclusion

La sélection d'un vin rouge développant un bouquet de vieillissement et l'utilisation des techniques de fractionnement par HPLC et d'analyse de la fraction volatile par GC-O-TOF MS nous a permis d'identifier l'abhexone dans les vins rouges. La validation d'une méthode de quantification par GC-MS/MS a permis l'étude de sa distribution dans les vins rouges.

Les concentrations rencontrées dans les vins après 20 ans de conservation, atteignent 1,2 µg/L et dépassent son seuil de détection olfactif (0,43 µg/L). Nos analyses révèlent également que la concentration en abhexone augmente au cours de la conservation en bouteille et que l'OTR de l'obturateur impacte sa formation. Plus l'apport en oxygène est important plus sa teneur sera faible.

Dans un second temps nous nous sommes intéressés aux énantiomères de cette furanone. Nous avons déterminé les seuils de détection. Ils sont de 0,22 µg/L et 2,2 µg/L pour les formes *S* et *R*. Par ailleurs, l'analyse des énantiomères par GC-MS/MS sur colonne chirale révèle une distribution quasi stéréospécifique : l'excès énantiomérique de la forme *R* est compris entre 50 et 94 %.





Chapitre 7. Optimisation de l'identification des thiols dans les  
vins rouges par la mise au point d'un protocole de réduction  
(A.R.T.)



## Introduction

La stratégie analytique conventionnelle appliquée à la caractérisation moléculaire du bouquet de vieillissement d'un vin rouge nous a permis d'identifier un composé : l'abhexone. Cette stratégie a révélé également ses limites tant le nombre de zones odorantes détectées par GC-O dans un vin rouge développant un bouquet sont similaires à celles retrouvées dans vin rouge oxydé.

Aussi, nous avons imaginé une autre stratégie permettant de faciliter le travail de caractérisation du bouquet de vieillissement des grands vins rouges. Elle est basée sur une observation empirique : les grands vins rouges susceptibles de développer un bouquet de vieillissement sont le plus souvent élevés plusieurs mois voire plusieurs années en barrique de chêne. Aussi, il nous est venu l'idée que cet élevage dont on connaît les bienfaits sur la couleur, l'arôme et le goût du vin jeune puisse également influencer le développement aromatique du vin rouge au cours du vieillissement en bouteille.

Ce chapitre retrace les expérimentations que nous avons menées sur ce sujet. Il correspond à une publication qui a été acceptée dans le journal *Food Chemistry* et intitulée : *Optimizing the identification of thiols in red wines using new oak-wood accelerated reductive treatment* (Suhas *et al.*, 2024).



# Optimizing the identification of thiols in red wines using new oak-wood accelerated reductive treatment

Emilie Suhas<sup>1,2,3</sup>, Svitlana Shinkaruk<sup>2,3</sup>, Alexandre Pons<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Diam Bouchage, Céret 66400, France

<sup>2</sup>Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, INRAE, OENO, UMR 1366, ISVV, F-33140 Villenave d'Ornon, France

<sup>3</sup>Bordeaux Sciences Agro, Bordeaux INP, INRAE, OENO, UMR 1366, ISVV, F-33170 Gradignan, France

<sup>4</sup>Seguin Moreau France, Z.I. Merpins, BP 94, 16103 Cognac, France

## **Corresponding author:**

Emilie Suhas

Phone: (33) 640 47 18 54

Email:

- [emilie.suhas@u-bordeaux.fr](mailto:emilie.suhas@u-bordeaux.fr)
- [svitlana.poix@u-bordeaux.fr](mailto:svitlana.poix@u-bordeaux.fr)
- [alexandre.pons@u-bordeaux.fr](mailto:alexandre.pons@u-bordeaux.fr)

## **Abstract**

This study proposes a new method for identifying thiols in red wines by mimicking specific chemical mechanisms that occur during bottle-aging. It involves the reaction of oak-wood extracts with hydrogen sulfide and the reduction of disulfides with DIBAL. After optimization of the reaction conditions, the aroma of fresh oak wood turned into intense “meaty” nuances reminiscent of the aging bouquet of red wines. Samples were analyzed by gas chromatography coupled with olfactometry (GC-O) and coupled with a pulsed flame photometric detector. This resulted in the identification of six odorant zones with meaty descriptors associated with sulfur compounds. One of the odorant zones was identified as 2-methoxybenzenethiol by using heart-cutting multidimensional GC coupled with olfactometry and time of flight mass spectrometer. Its identification in aged red wines was confirmed by GC coupled with tandem mass spectrometry analyses. Five other thiols associated with oak-wood precursors were also identified in red wines.

**Keywords:** Sulfur compounds, Oak-wood derivatives, MDGC, Identification, Aging bouquet

# 1. Introduction

Thousands of volatile compounds (Rapp 1988) comprise the volatile fraction of a wine. Some of these compounds have sensory properties and contribute either directly to the aroma of the wine or indirectly through complex perceptive interactions, whereas most of them are odorless (Sáenz-Navajas *et al.*, 2012).

As recently underlined by Chen and Darriet, (2021) identifying a new aroma impact compound of wine is very tricky and time-consuming, especially those occurring at trace ( $\mu\text{g/L}$ ) to ultra-trace ( $\text{ng/L}$ ) levels, which require specific sensitive devices. The most widespread analytical strategy consists in four steps including, (1) selection of wines according to specific sensory descriptors, (2) extraction and detection of odorant zones (OZ) by GC-O, (3) optimization of extraction and separation protocols for the detection of compounds associated with OZs by preparative, mono- or multidimensional techniques, followed by (4) identification thanks to GC-MS using commercial or chemically synthesized compounds (Chen and Darriet, 2021, Pons *et al.*, 2016). According to the concentration and the chemical nature of the target compound, this strategy is a) ‘wine-consuming’, since several litres are needed to develop and validate the extraction and purification protocols, and b) time-consuming, because months or even years of work are needed.

To overcome this drawback, the analyst has two main options. The first consists of working with fruits, vegetables or spices naturally developing the aroma detected in wine. This approach is worthwhile when the food product contains large amounts of the desired compound and if its intrinsic complexity is lower than that of the wine. Of course, once identified in the food product, the distribution of the compound needs to be studied and validated in wine. For example, this strategy was successful in identifying prune-like odors (Pons *et al.*, 2008), or peppery nuances (Wood *et al.*, 2008) of red wines. The second approach consists in reproducing the aroma at laboratory scale as for studying oxidative evolution, which is easy to reproduce (Escudero *et al.*, 2000). In the case of the long-term bottle-aging necessary for a bouquet to develop, it is not possible to reproduce at laboratory scale the aroma complexity found in old red wines owing to the diversity of chemical mechanisms involved, such as hydrolytic cleavage (Winterhalter, 1991), oxidation (Escudero *et al.*, 2000), reduction and Maillard reaction (Marchand *et al.*, 2000). However, despite this drawback, understanding wine evolution and qualitative aging at the molecular level through the identification of key impact molecules is crucial for the wine industry.

Nowadays, the production of high-quality red wines involves maturation in oak-wood barrels to improve the aroma balance and taste of the wine (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2021). During barrel-aging, oak wood releases various volatile compounds that are involved in the perception of nuances such as “coconut”, “wood”, “vanilla”, “spice”, and “toasted”. According to Courregelongue *et al.* (2022), 340 volatile compounds were identified. They belong to different chemical families, especially the phenolic



derivatives which are the most abundant in toasted oak woods some can be detected during maturation and after years of bottle-aging. For example, 2-furanmethanethiol (FFT), which is reminiscent of “coffee” notes, was reported not only in young barrel-fermented wines but also as an impact compound involved in the bouquet of old champagnes (Tominaga *et al.*, 2003b) and red wines (Picard *et al.*, 2015a). Furfuryl alcohol (Cerny *et al.*, 2021) and furfural (Blanchard *et al.*, 2001) were defined as potential precursors of this compound in different foods and beverages. The formation of FFT in young red wines is due the reaction of furfural and hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) (Blanchard *et al.*, 2001), whereas the hypothesis of its formation during bottle-aging is very likely similar. The origins of these precursors in young wines are well known: furfural is released during oak-wood maturation whereas H<sub>2</sub>S is produced during alcoholic fermentation. However, the origins of furfural and H<sub>2</sub>S during long-term aging remain elusive. According to Tominaga *et al.* (2003b) FFT concentrations may increase during bottle-aging probably owing to the reduction of sugars (Xu *et al.*, 2008). The increase of H<sub>2</sub>S during bottle-aging is quite complex. Sulfites might be released by disulfides or the reduction of sulfates (Swiegers and Pretorius, 2005) or they may come from adducts with carbonyl compounds (Waterhouse and Laurie, 2006). Following knowledge of the reaction of carbonyls and H<sub>2</sub>S, Floch *et al.* (2016) developed an original strategy for the chemical synthesis of vanillylthiol (VSH), enabling its first identification and quantification in wine.

In view of these preliminary observations, oak-wood components can be considered as aroma precursors in wine. Therefore, the hypothesis was proposed that oak wood could serve as a material to work with to mimic long-term bottle-aging. It is far less complex than wine, easy to obtain, and toasting can modulate its composition and sensory balance. This study investigated the impact of the chemical sulfide reduction of oak wood (toasted or not) on the non-targeted production of thiol compounds and their identification in red wines.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Chemicals

3-Octanol (>99 %), dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, HPLC grade), LiAlH<sub>4</sub>: lithium aluminium hydride 1M in tetrahydrofuran (THF), DIBAL: diisobutylaluminium hydride 1M in THF, 2-methoxybenzenethiol (> 97 %), 2-furanmethanethiol (> 98 %), and 2,6-dimethylbenzenethiol (95 %) were purchased from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France), whereas 5-methyl-2-furanmethanethiol (> 95%) and 2,6-dimethoxybenzenethiol (> 95 %) from Enamine (Kyiv, Ukraine). 2,5-Dimethylfuran-3-thiol (> 98%) was purchased from BLDpharm (Namiki Shoji Co. Ltd. Japan). Anhydrous sodium sulfate (99 %) was supplied by Prolabo (Lyon, France). Ethanol (HPLC grade) was purchased from Merck KGaA

(Darmstadt, Germany), methanol (HPLC grade) and 2-methylbenzenethiol (98 %) were from Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA). Sodium hydrosulfide (NaSH) pure flakes and 2-methoxyphenol (guaiacol) (> 99 %) were purchased from Acros Organics (Illkirch, France). Vanillylthiol was synthesized previously according to Floch *et al.* (2016) Ultra-pure water was used in all sample preparations and model wine (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, USA). All organic solvents and inorganic salts used for organic synthesis were purchased from Sigma-Aldrich Chemicals (St Quentin Fallavier, France).

## 2.2. Oak samples and wines

French oak-wood (*Q. petraea*) samples were provided by Seguin Moreau cooperage (Cognac, France). Oak-wood chips corresponded to four different toasting intensities as described by Courregelongue *et al.* (2022). The same batch of oak-wood was divided into four samples kept at different temperature-time pairs: non-toasted, 180°C-4 hours (light toasting), 200°C-2 hours (medium toasting), 225°C-2 hours (intense toasting). Each of them develops specific nuances reminiscent of “wood plank”, “sawdust”, “fresh wood” for non-toasted, “vanilla” for light toasting, “toast” for medium toasting, and “smoky” and “roasted” for intense toasting. The descriptors were determined by the internal R&D staff of the company. According to the experiments, oak-wood macerates consisted in oak-wood chips (50 g/L) kept in ethanol (100 % vol.) or hydroalcoholic solution (12 % vol.) for 7 days at room temperature sheltered from light. Samples were coarsely filtered to remove chips. To identify new compounds of interest in wine, a Bordeaux red wine (Merlot/Cabernet Sauvignon, 30/70) from the 2008 vintage aged in oak wood barrels for 12 months was selected.

## 2.3. Protocol for oak-wood accelerated reductive treatment (A.R.T.)

Stage 1. The starting protocol was based on Floch *et al.* (2016). Briefly, a 10 g/L of oak-wood (lightly toasted) macerate in hydroalcoholic solution (12 % vol., pH 3.77) was filtered and spiked with 1 mg/L of sodium hydrosulfide hydrate in water. After seven days at room temperature, 200 mL were extracted three times with dichloromethane by shaking (2 × 10 mL for 10 min and 5 mL for 5 min, 750 rpm). The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and then concentrated to 5 mL under nitrogen flow (approximately 100 mL/min). Then, 0.25 mL of LiAlH<sub>4</sub> solution (1M, THF) was added in 2 mL of sample at -78 °C under argon atmosphere. The reaction was allowed to warm to room temperature for 2 hours and was stopped by methanol (0.1 mL) addition. The pH was adjusted to pH 2–3 with HCl (0.5 M). Then, the organic part was dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated to 200 µL under nitrogen flow. All these reactions were made with stirring and under argon.

Stage 2. The parameters of the reaction were optimized: NaSH (0, 1, 8 mg/L), the extraction solvent (dichloromethane 100 % vol., water/ethanol solution 88/12, v/v or ethanol 100 % vol.), the time (1, 3, or 7 days), the temperature of the reaction of the disulfide formation (20 °C, 40 °C or 60 °C) as well as the reducing agent (0.5 mL of DIBAL solution or 0.25 mL of LiAlH<sub>4</sub> solution).

Stage 3. The final protocol was as follows. A 50 g/L solution of oak-wood chips macerated in ethanol (100 % vol.) at room temperature (20 °C) for seven days was filtered and spiked dropwise with 10 mg/L of sodium hydrosulfide hydrate in water. This solution was kept one more week at room temperature in a shaded place. 24 mL of the alcoholic macerate were sampled and diluted up to 200 mL with mQ water to reach a final concentration of ethanol at 12 % vol. Solution was extracted with dichloromethane and dried as described in stage 1. Then, reduction step was similar to stage 1 using DIBAL (0.5 mL 1 M, THF) as reducing agent.

## **2.4. Identification of thiols in reduced oak wood samples**

### **2.4.1. Gas chromatography coupled with pulsed flame photometric detector (GC-PFPD) and olfactometry (GC-O)**

To selectively detect sulfur compounds, organic extracts were analyzed on an Agilent 7890A GC (Oven I, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) equipped with a 5383 Pulsed Flame Photometric Detector (PFPD) from O.I. Analytical a xylem brand (SRA Instruments SAS, Marcy l'Étoile, France) and an olfactometry detection port (ODP I). Analyses were carried out sequentially on both detectors. Chromatographic separation was performed on a polar BP 20 capillary column (SGE, 50 m, 0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness). The carrier gas was helium (He) (Messer, Bordeaux, France), 5.3 grade, at a constant flow rate of 1 mL/min. A 1 µL sample was injected via an Agilent 7683B (Agilent) automatic liquid sampler into a splitless injector (closure time 1 min, purge flow 50 mL/min) where the temperature was set at 230°C. An ultra-inert liner for splitless injection single taper, glass wool, from Agilent (Santa Clara, CA, USA) was used. Additional GC-O experiments were also carried out with an on-column injector (Darriet *et al.*, 2000) with the same analytical polar column connected to a deactivated silica megabore guard column (40 cm, 0.53 mm, Agilent). A manual injection of 1 µL was performed inside the column. The temperature program of the injector was as follow: 45°C for 2 min and then raised to 230°C at 150°C/min and held at that temperature for 30 min. The oven temperature was initially set at 45°C for 1 min, then raised to 250°C at 3°C/min, and held at that temperature for 5 min. The PFPD detector operated at 250°C with the following combustible gas flow rates: H<sub>2</sub> = 11.80 ml/min, Air<sub>1</sub> = 17.20 mL/min, and Air<sub>2</sub> = 9.00 ml/min. Other parameters were as follows: photomultiplier tube voltage = 530 V, gate delay = 6.0 ms, gate width = 24.5 ms, trigger level = 200 mV. Automatic integration was carried out to compare the integration of all chromatograms generated.

Parameters were adjusted as follows: slope sensitivity at 10, peak width at 0.03, area rejects under 3, height reject at 1. This method allowed us to count the number of peaks integrated and their areas between 10 and 60 minutes.

To validate the identification of compounds by GC-PFPD, 0.5  $\mu\text{L}$  of the organic extract (lightly toasted oak wood) and 0.5  $\mu\text{L}$  of the standard ( $\sim 1 \text{ mg/L}$ ;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) was sampled with a 10  $\mu\text{L}$  syringe and injected manually in the injection port of the GC.

#### 2.4.2. Capillary gas chromatography coupled with olfactometry and time of flight mass spectrometry (GC-O-TOF MS).

Analyses were carried out on an Agilent 7890A GC (Oven II, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) coupled to an ODP-3 olfactometry detection port (Gerstel Mülheim an der Ruhr, Germany), and a JMS-T100GC high-resolution mass spectrometer (JEOL Ltd, Akishima, Tokyo, Japan). A 2  $\mu\text{L}$  sample was introduced onto a polar BP 20 capillary column (SGE, 50 m, 0.25 mm i.d., 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness) or a non-polar BPX5 capillary column (SGE, 50 m, 0.22 mm i.d., 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness). At the end of the analytical column, the flow was split (1:1) via a crosspiece (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany) between MS detection and the sniffing port by a deactivated silica column. The carrier gas was He (Messer, France, 5.3 grade) with a constant flow rate of 1 mL/min. The temperature of the injector in splitless mode (purge time 1 min; purge flow 50 mL/min) was set at 230°C and the liner used was an ultra inert liner for splitless injection single taper, glass wool, from Agilent (Santa Clara, CA, USA). The oven temperature was initially set at 45°C for 1 min, then raised to 250°C at 3°C/min, and held at that temperature for 5 min. Compounds were detected in scan mode ( $m/z$  45-300) with ionisation energy set at 70 eV and the source temperature at 250°C. Signal acquisition was performed by MassCenter™ workstation software. The system was tuned with PFK to achieve a resolution of 5000 (FWHM) at  $m/z$  292.9824. Linear retention indices (LRI) were obtained by simultaneous injection of samples and a series of alkanes ( $\text{C}_8\text{-C}_{20}$ , 40 mg/L in hexane). GC-O-TOF MS experiments to make aromagrams were carried out in duplicate between 10 and 60 minutes by trained laboratory staff ( $n = 3$ ). GC-TOF MS experiments were conducted on the same system with the column connected to the olfactory port sealed with a septum.

#### 2.4.3. Multi-Dimensional gas chromatography coupled with olfactometry and high-resolution mass spectrometry (MDGC-O-TOF MS).

Multi-dimensional gas chromatography (MDGC) separation, inspired by Pons *et al.* (2008), was carried out on two different columns with different polarities located in two ovens and connected by a transfer line. Oven I was an Agilent 7890A GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Oven II correspond to the GC-O-TOF MS system described previously. The first column was a polar BP 20 capillary column (SGE, 50 m, 0.25 mm i.d. 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness) connected to a sniffing port ODP-I (Gerstel Mülheim

an der Ruhr, Germany) and to the second column via a Gerstel MCS 2 multicolumn switching system. The first GC oven (I) was programmed from 45 °C (1 min) to 250 °C at 4 °C/min and held for 5 min to ensure that all compounds were eluted. The heart cut range (36.5-37.7 min) was selected with the ODP I system. During this period the cryogenic trap was maintained at -20 °C with liquid nitrogen. The temperature of the transfer line was set at 230 °C. This protocol was applied four times (4 injections of 2 µL). After the last fraction collected, the temperature of the cryogenic trap was increased to 230 °C at 14 °C/sec. The concentrated fraction was re-chromatographed on the second dimension, a non-polar BPX5 capillary column (SGE, 50 m, 0.22 mm i.d., 0.25 µm film thickness). The temperature of oven II was initially set at 45°C for 1 min, then raised to 240°C at 3 °C/min, and held at that temperature for 10 min. The end of the second column was split (1:1) via a crosspiece (Gerstel) between TOF MS detection and the sniffing port. For oven I, only 10 % of the total flow was transferred to the deactivated fused silica column connected to ODP I, while 50 % of the flow was transferred to ODP II in oven II. The MDGC system was operated under constant pressure to maintain the balance between the two columns throughout the oven temperature program. Column head pressures were 300 kPa (oven I) and 207 kPa (oven II). Helium 6.0 (Messer) was used as the carrier gas, with a constant flow rate of 2 mL/min. The mass spectrometry parameters corresponded to those described in the previous section (2.5).

## 2.5. Sensory analysis

Sensory evaluation of all organic extracts was conducted at room temperature (~20°C) under clear air conditions. Smelling strips were used to describe the odor of the organic extract, which was stored (one week) in a freezer (-20°C) and kept at room temperature for 30 min before opening. One drop (10 µL) of each sample of wood extract placed at the end of the smelling strip was quickly evaluated by a jury composed of four members of the laboratory staff. All participants provided written and signed informed consent. They were asked to smell samples and to write down their own characteristic descriptors. Based on the study by Pecore *et al.* (1993) a 20-s interval was observed between two sensory evaluation assessments. Finally, all descriptors were collected and pooled according to their similarity to describe the samples as accurately as possible. For example, the descriptors meat juice, cooked meat and meaty were associated with the descriptor meat juice.

## 2.6. Optimization of the reaction parameters by Box-Behnken design.

The Box-Behnken design (BBD) can be applied to highlight the impact of three factors (X1, X2, X3) at three different levels (-1, 0, 1) by reducing the number of experiments from 27, corresponding to 3<sup>3</sup>

samples (3 variables and 3 levels for each; 1 mg/L for 3 days at 40°C) to 15 experiments (Nagarajan and Annadurai, 1999). The non-linear quadratic model generated by the BBD is of the following form:

$Y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3 + A_4X_1X_2 + A_5X_2X_3 + A_6X_1X_3 + A_7X_1^2 + A_8X_2^2 + A_9X_3^2 + E$ , in which Y is the measured response associated with each factor-level combination; A<sub>0</sub> is an intercept; A<sub>1</sub>–A<sub>9</sub> are the regression coefficients; A<sub>1</sub>–A<sub>3</sub> are the main effect of X<sub>1</sub> (NaSH dose), X<sub>2</sub> (times) and X<sub>3</sub> (temperature); A<sub>4</sub>–A<sub>9</sub> are the interactions of the main factors, and E is the error term. In the present study, the Box-Behnken design was applied to investigate and validate the formation of thiols derived from oak-wood and detected by GC-PFPD. Temperature (20-40-60°C), time (1-3-7 days), and sodium hydrosulfide hydrate concentration (0-1-8 mg/L) were considered as independent variables. Factor levels were coded as -1 (-low), 0 (central point) and 1 (high) as described in Table S 31. Fifteen samples were taken, comprising 12 combinations of the three variables at different levels and 3 repetitions at intermediate levels for the three variables (Table S 34). Results of the optimization were based on the numbering of chromatographic peaks detected by GC-PFPD in the 10-to-60-minute range, and the integration of two peaks at 17.85 min (Peak 1) and 23.68 min (Peak 2, FFT). Multiple linear regression (ANOVA) was carried out to evaluate the influence and significance of each individual factor and their interactions.

## **2.7. Identification of thiols in red wine by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS)**

The method was similar to that previously described by Thibon *et al.* (2015). In short, 20 mL of red wine sample were extracted by solid-phase extraction on a polystyrene-divinylbenzene hydrophobic polymer (Chromabond HR-X). Volatile compounds were eluted with 3 mL of solvent mixture pentane/dichloromethane (50/50, v/v) and 3 mL of dichloromethane/methanol (95/5, v/v). Organic phases obtained were blended and dried with anhydrous sodium sulfate and concentrated to 150 µL under nitrogen flow. Volatile compounds were analyzed by a chromatographic system comprising a gas chromatograph Trace GC Ultra (Thermo Electron SAS, Courtaboeuf, France) coupled to a triple quadrupole mass spectrometer TSQ Quantum XLS. GC separation was carried out on a polar wax capillary column (polyethylene glycol, 50 m; 0.25 mm; 1µm) from Macherey-Nagel (Düren, Germany). A 1 µL sample was injected via the autosampler (Triplus RSH auto-sampler) in a split/splitless temperature-programmable injector (closure time 1 min, split flow 30 mL/min) and set as follows: 0.3 min at 200 °C for 1 min, then rising to 250 °C at 14 °C/min and kept at that temperature for 10 min. The liner used was a PTV straight, ultra inert liner of 1 mm from Thermo Scientific (Waltham, MA, USA). Oven temperature was initially set at 45 °C, held for 1 min, then raised to 250 °C at 4 °C/min, and finally kept at that temperature for 10 min. The MS transfer line temperature was set at 250 °C. Source

parameters, including source temperature, electron energy, emission current, and electron lens were set at 230 °C, 70 eV, 50  $\mu$ A, and 100 V respectively. The collision gas was argon (100 %, Messer Lenzburg, Switzerland) and the mass spectrometer was in electron ionization (EI) mode. SRM conditions were optimized for each compound in terms of collision energy and gas pressure values applied to each precursor ion depending on each transition. To do that, each individual thiol (~ 1 mg/L) was spiked to organic extract of oak wood obtained after ART and red wine obtained after SPE and analyzed by GC-MS/MS. For each compounds precursor ion ( $m/z$ ), product ion ( $m/z$ ) and collision energy (V) were optimized and detailed in Table S 35. The most intense transitions, were as follows: 2-methoxybenzenethiol (140.0, 97.0, 15), 5-methyl-2-furanmethanethiol (128.0, 95.0, 5), 2-methylbenzenethiol (124.0, 91.0, 10), 2,6-dimethylbenzenethiol (138.0, 105.0, 10), 2,5-dimethylfuranthiol (128.0, 95.0, 10), 2,6-dimethoxybenzenethiol (170.0, 155.0, 10) and validated identification by co-injection. Instrument setting, data acquisition, and processing were performed by using Xcalibur software (version 2.1.0). Perfluorotri-*n*-butylamine (PFTBA) was used for mass calibration. The same experiments were carried out on a non-polar column BPX5 (SGE, 50 m, 0.22 mm i.d., 0.25  $\mu$ m film thickness). Oven temperature was initially set at 45 °C, held for 1 min, then raised to 180 °C at 4 °C/min, and to 250 °C at 25 °C/min, and finally kept at that temperature for 5 min.

## 2.8. Data analysis

To reveal differences between reaction steps, samples were duplicated and a variance analysis (ANOVA) followed by a Tukey post-hoc test was used to compare variables such as number of chromatographic peaks and the sum of area peaks. Risk,  $\alpha$ , was set to 5 %.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Proof of concept of thiol formation from wood after accelerated reductive treatment (A.R.T.)

The hypothesis is that thiols similar to those formed in wine during bottle-aging are formed by chemical reactions that occur when oak-wood is used as raw material. This hypothesis is based a) on the formation pathways of FFT and VSH when aldehydes like furfural and vanillin or alcohols like furfurylic alcohol and vanillic alcohol intervene as precursors, and b) on the chemical synthesis route described by Floch *et al.* (2016) (Figure 35 A). To this end, a three-step chemical synthesis using wood-chip macerate instead of pure compound was tested to search for new thiols related to oak-wood precursors (Figure 35 B).

The protocol involves the extraction of compounds from oak-wood chips with 12 % vol. hydroalcoholic solution (S0), followed by reaction with NaSH for seven days (S1), and finally a reduction step to release thiol compounds (S2). This protocol was applied to oak-wood chips having a light toasting intensity reminiscent of vanilla and toasted aromas (Table 28). After the reaction, organic extracts were evaluated on a smelling strip. The treatment turned the aroma of oak-wood samples into a complex mixture of bacon, smoky, and earthy notes. Samples obtained before (S0) and after (S2) the reaction were also analyzed by GC-PFPD (Table 28). This chemical reaction, applied on oak wood, is able to greatly change the composition of the extract in sulfur compounds in terms of peak number and signal intensity illustrated here by the area sum of all peaks. Modifications of the sensory properties of oak-wood samples along with the formation of sulfur compounds justified further investigations.

### 3.2. Optimization of reaction parameters.

To optimize the amount and the diversity of sulfur compounds by the A.R.T. reaction described in Figure 35 B, each step of the protocol were analyzed. The parameters for step S0 were the type of oak wood (*i.e.* toasting intensity) and the extraction solvent. Parameters for step S1 were the following: solvent, temperature, reaction time and NaSH concentrations. In step S2, the choice of the reductive agent was also studied.

The impact of the parameters of entire reaction (from maceration to reduction) on the final composition of organic extracts was assessed by GC-PFPD using two criteria: the number and the sum of the area of all peaks, as well as the area of two specific peaks (peak 1, 17.85 min and peak 2, 23.68 min). The first one (peak 1) was arbitrary selected for its high intensity. The second (peak 2) was identified as FFT by GC-O-PFPD based on the similarity between sensory descriptors and linear retention index (Ruther and Baltes, 1994) and by co-injection with a pure standard (Figure S 38). Its identification in this organic extract is important as it validates the hypothesis that oak-wood volatiles (furfural and furfuryl alcohol, in the case of FFT) can react with H<sub>2</sub>S to produce sulfur and thiol compounds. The optimization of the protocol on the formation of a thiol compound was also evaluated. Similar observations were made for VSH, which was identified in extracts on a non-polar (BPX 5) column (Figure S 39). As these compounds have already been described in wines, these findings support the hypothesis regarding the identification of thiol compounds in oak wood after A.R.T. to establish their identification in wines.

#### 3.2.1. Selection of reducing agent (S2), raw material, and extraction solvent (S0)

For step S2, the reducing agents were LiAlH<sub>4</sub> (lithium aluminum hydride) and DIBAL (diisobutylaluminum hydride) (Table S 32). Experiments conducted, as presented in Stage 1 but with dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) as extraction solvent, showed that the reduction agent has an impact on the



aroma and the sulfur composition. Both extracts presented barbecue descriptors with much more complex nuances perceived after DIBAL treatment. In addition, comparison of chromatograms obtained by GC-PFPD analysis of samples showed that those reduced with DIBAL contained more peaks with a higher intensity. Importantly, these reagents are known to provide hydride ion H<sup>-</sup> by different reaction mechanisms. The reducing capacity of DIBAL is less efficient and the DIBAL reductions can produce both alcohols and aldehydes and so result in more complex mixture. The non-selective and/or partial DIBAL reduction followed by further intermolecular interactions between compounds of different oxidation states led to the larger number of formed compounds (Table 28).

Then, an evaluation of the impact of four oak-wood (*Q. robur*) toasting intensities on the composition of the final organic extract (step S2) was carried out by evaluating the aroma and sulfur compound levels. As depicted in Table 29 whatever the intensity of toasting, every sample exhibited similar nuances reminiscent of “grilled meat” and “meat juice” such as “barbecue, bacon smoky, meat juice”. The most surprising results in terms of sensory modification, were obtained with the non-toasted samples, reminiscent of “fresh wood and sawdust” before the sulfur treatment, and turning into “barbecue, smoky, meat juice” after it. This means that precursors of sulfur compounds reminiscent of these nuances can be found in non-toasted oak-woods. This observation was consistent with the presence of reactive carbonyls and alcohols compounds in non-toasted oak woods (Collins *et al.*, 2015). Moreover, differences between treatments were observed in terms of sensory complexity and composition. For these reasons, the “light toasting” oak-wood extract reminiscent of bacon, spicy, smoky, and barbecue exhibited the highest aroma complexity and intensity, so it was used for the rest of this study.

To optimize step S0, the performance of three different solvents: dichloromethane (100 % vol.), water/ethanol solution (88/12, v/v) and ethanol (100 % vol.) was compared (Table S 33). According to the experiment (E), the aroma of the extract was completely different: slightly modified compared to the control sample when 12 % EtOH was used (Table S3 E2, vanilla, smoky) to strongly impacted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Table S 33 E1, bacon, animal and sweat) and 100 % EtOH (Table S 33 E3, bacon, roasted, ashes). Ethanol as extraction solvent gave the best results in terms of sulfur compound production, suggesting that, according to the polarity of the precursors and their solubility, ethanol is the most suitable for their extraction in oak wood. Therefore, 100 % EtOH was used for oak-wood extraction (step S0) and DIBAL for the reduction step (S2) in the rest of this study.

### 3.2.2. Application of a Box-Behnken design (BBD) to optimize step S1

Owing to the large number of variables involved, instead of selecting each variable step by step, an alternative approach was selected using a statistical optimization method that allows for the most efficient planning of variable combinations to reduce the number of experiments (Nagarajan and Annadurai, 1999). In this case, a BBD approach evaluated the impact of three reaction parameters on

the number of peaks detected by GC-PFPD and the peak area for P1 and FFT as summarized in Table S 35, NaSH ([NaSH] X1) concentration, time (t, X2) and temperature (T, X3). It was demonstrated (Table S 34) that these three parameters have a strong and significant impact on the composition of organic extract analyzed by GC-PFPD, expressed in terms of number of peaks ( $p < 0.0001$ ), FFT peak area ( $p < 0.01$ ), and peak P1 area ( $p < 0.05$ ). For example, the number of peaks detected in samples ranged from 2 without H<sub>2</sub>S (E5) to 292 with 8 mg/L of NaSH (E11). For FFT, the best combination between the three parameters was 8 mg/L of NaSH for 3 days at 20 °C. Finally, statistical processing by linear regression (ANOVA) demonstrated the optimal parameters, i.e. 5 days of reaction at 20 °C (room temperature) with 8 mg/L of NaSH (Table S 34).

Finally, the main parameters of the reaction were optimized to produce complex sensory descriptors and many sulfur compounds. As depicted in Table 1, the optimized protocol (stage 3) enabled us to increase the number of peaks and the sum of the area by at least factors 11 and 25, respectively, while maintaining an intense bacon aroma of the sample. The modification of the final composition of the organic samples in sulfur by GC-PFPD and volatile compounds by GC-TOF MS is illustrated in Figure S 40.

### 3.3. Identification of 2-methoxybenzethiol

A.R.T. allowed us to modify reproducibly at laboratory scale the aroma of oak-wood organic extract ranging from vanilla and coconut notes to a complex mixture of meat juice, smoky, roasted and bacon notes. Usually, the vanilla and coconut notes were associated with the aroma of young barrel-aged red wines kept a few years in bottles, whereas meat juice, smoky and bacon are mostly used by professionals to describe very old wines aged more than 10 years (at least) in bottles (Picard *et al.*, 2015b). Therefore, it is likely that reductive treatment lasting for weeks in laboratory conditions was able to mimic specific chemical mechanisms that takes place over several years in bottles. For this reason, it was then attempted to identify the volatile compounds associated with these nuances generated during the chemical reaction.

First, oak-wood organic extracts were analyzed by GC-O on polar (BP 20) and non-polar (BPX5) analytical columns. More than 60 odorant zones (OZ) were detected on the polar column and 50 on the non-polar one (in 10 to 60 min range). OZs were more intense and well separated on the polar column, so this phase was used for the rest of the study. In the aromagram, 13 OZs were described as “meat juice”, “smoky”, “roasted”, “meat”, and “bacon” (result not shown). Among these OZs, six were newly detected (compared to the control sample before A.R.T. treatment, step S0) and showed a similarity between their descriptors and those used to describe the organic extracts on a strip tip. Extra experiments were carried out with on column injection of these organic extract on polar (BP20) column to confirm the presence of these OZs and the absence of artefacts due to the instrument conditions. To identify

putative sulfur compounds associated with the aromatic perception of “meaty” notes, the aromagrams and the GC-PFPD chromatograms were overlaid (Figure 36 A).

OZ5 attracted our attention because of its similarity (Table 3) with the odor of the crude organic extract (Table 29). Unfortunately, chromatograms obtained by GC-O-TOF MS did not present a clear chromatographic peak at the retention time of the OZ5. In addition, in the window corresponding to the OZ5, averaging high-resolution mass spectrometry detection was not able to produce a clear mass spectrum associated with a known compound in the data base (NIST 2011, FFNSC 3). Therefore, preparative multi-dimensional gas chromatography (prep-MDGC) was used to improve the separation of the volatile compounds and their detection. Four injections of 1  $\mu$ L of sample enabled us to concentrate the targeted compounds. The first dimension was a polar column whereas the second dimension was a non-polar one. Therefore, the retention time of OZ5 was determined on the first dimension (LRI polar = 1861) with the OD1 port before being transferred to the second dimension. Application of a short heart cut window (1 min) enabled us to transfer OZ5 to the second column, resulting in only one OZ detected at 32.5-33.0 minutes (LRI non-polar = 1239) (Figure 36 B). The chromatogram obtained in the second dimension revealed three peaks located in the odorant zone. The mass spectrum corresponding to the beginning of the detection of the odor did not fit with known compounds. However, the average mass spectrum of the zone presented an intense ion at  $m/z$  140.0308 likely corresponding to the molecular ion  $[M]^{+\bullet}$  of the target compound corresponding to the chemical formula:  $C_7H_8OS$  (5 unsaturations,  $M_{th} = 140.0296$ ) with an accuracy error below 10 ppm (8.6 ppm) which was quite acceptable for a TOF analyzer tuned to achieve a resolution of 5000 (Figure 36 C). This result was consistent with the expected presence of a sulfur atom in the chemical structure of this compound. Based on the  $m/z$  of the molecular ion and the chemical formula, the data base (NIST 2011, FFNSC 3) attributed twelve known sulfur compounds: 2,6-dimethyl-4-thiopyrone, 2-(5H)-thiophenone, 2-mercaptobenzyl alcohol, 1-(2-thienyl)-1-propanone, 2-acetyl-3-methylthiophene, 2-acetyl-5-methylthiophene, 4-methoxybenzenethiol, 4-(methylthio)phenol, methylsulfinyl benzene, 2-methylthiophenol, 2-methoxybenzenethiol, and 3-methoxybenzenethiol. For each of them, a comparison of experimental LRI and sensory descriptors to those found in the literature on polar and non-polar columns was carried out (Table 30). Based on data found in literature, one compound, 2-methoxybenzenethiol (2-MTP) reminiscent of “onion-like”, “meat” and having a similar retention time (LRI non-polar = 1237) attracted our attention. Its identification was validated by co-injection of the commercial pure standard and an organic oak-wood extract (stage 3) by GC-PFPD (Figure 36 E). The purity of the solution of 2-MTP ( $CH_2Cl_2$ ) was validated by GC-PFPD and GC-TOFMS. In addition, the pure compound and was also analyzed by MDGC-O-TOF-MS to confirm the descriptors and retention time of the OZ (Figure 36 D).

This compound (2-MTP) was first described as “coffee-like”, “onion-like” and “warmed-over” by Butterworth and Mason (1981) and has received little attention until now, even though it has been used

since 1974 as a food additive (FEMA 4159). An *et al.* (2022) found that it contributed to the warmed-over flavor of surimi gel at a detection threshold of 14.5 µg/kg. More recently, it was identified in hickory smoke (Rizzo *et al.*, 2022) and in wines marked by smoky taint (Tomasino *et al.*, 2023). Its origin remains elusive, so it was hypothesized that 2-methoxyphenol (guaiacol), a well-known phenol in oak-wood (Chatonnet, 1995), might be a precursor of 2-MTP. To confirm this hypothesis, the protocol (stage 3) was applied on an oak-wood extract spiked or not with 200 µg/L of guaiacol (G+). Comparison of chromatograms obtained by GC-PFPD showed an increase in the signal of 2-MTP when the guaiacol concentration was modified, confirming its role as a precursor (Figure S 41). However, additional experiments need to be conducted to validate this pathway in red wine during bottle-aging.

### 3.4. Characterisation of other odorant zones

A comparison of LRI found in the literature for thiol compounds reminiscent of meaty odor, allowed the identification of the compounds associated with the other OZs. Identification in oak-wood samples was validated by co-injecting the commercial standards with oak-wood extracts on GC-MS/MS (Figure S 42). OZ1, which is reminiscent of meat juice, was identified as 2,5-dimethyl-3-furanthiol. This furan-3-thiol derivative associated with meat juice was identified in coffee (Tressl and Silwar, 1981) and in chicken-like oily essence (Shao *et al.*, 2011). OZ2, which was described as grilled and empyreumatic, corresponded to 5-methyl-2-furanmethanethiol (Burdock, 2016), an impact compound in Huangjiu (rice wine) (Zhou *et al.*, 2019), and coffee (Tressl & Silwar, 1981) and described as burnt, roasted, coffee and sulfurous. OZ3, which was associated with meat juice and garlic, corresponded to the presence of 2-methylbenzenethiol, which has already been described in boiled meat (Garbusov *et al.*, 1976) and was recently detected in wine (Tomasino *et al.*, 2023). OZ4, which was perceived as grilled meat, corresponded to 2,6-dimethylbenzenethiol, a thiophenol derivative (Zhang *et al.*, 2019) identified in barley and contributing to beer flavor (Windes *et al.*, 2021). OZ6 corresponded to 2,6-dimethoxybenzenethiol.

### 3.5. Identification of oak-wood derived thiols in aged red wine

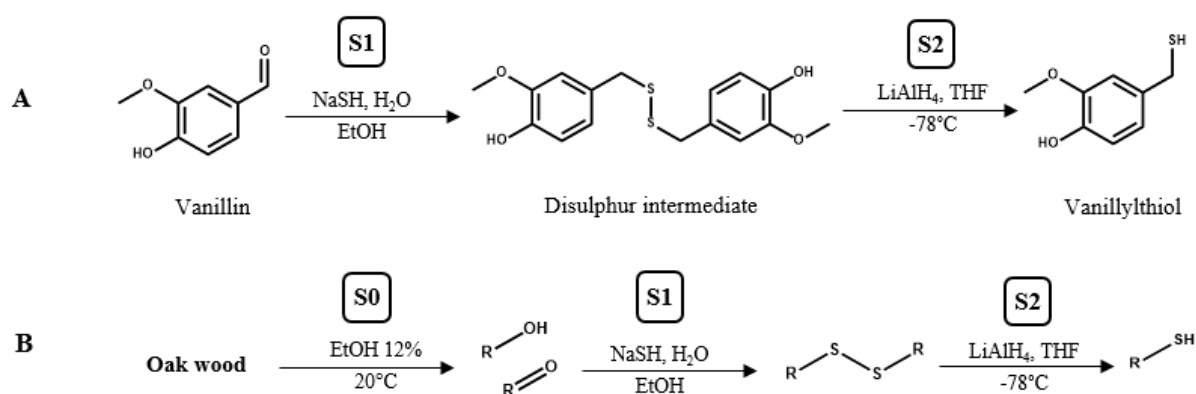
To go further, a sensitive selective extraction and detection method (SPE, GC-MS/MS) was used to identify these six thiols in red wine aged in oak barrels. According to the co-injection protocol detailed in part 2.9 each compound was analyzed twice by GC-MS/MS to obtain the mass spectrum (EI) and specific transitions. Two transitions were selected to confirm their identification in a red wine (Table S 35). A red wine spiked or not with thiols was extracted and analyzed by GC-MS/MS on a polar column (Figure 37) and a non-polar column (Table S 35) for two different transitions (Figure 37 and Figure S 42). The sulfide

reduction of oak-wood extract allowed their identification in a red wine. Some of them are now reported in a red wine for the first time such as 2,5-dimethyl-3-furanthiol, 2,6-dimethylbenzenethiol and 2,6-dimethoxybenzenethiol.

Further work will be necessary to study the distribution of these “meaty” aroma compounds in wines, associated with the “aging bouquet” (Picard *et al.*, 2015b) as well as their sensory impact and their evolution during bottle-aging according to the oxygen transfer rate (OTR) of the stopper, as recently reported for other thiols (Pons *et al.*, 2021). In addition, the formation of these new compounds in wines and their sensory contribution to the meaty aroma will be investigated in the near future.

## 4. Conclusion

Finally, the new methodology developed with oak wood as raw material, enabled the identification of thiols in red wines. Some of them were reported for the first time. Of course, the precursors of these thiols in wines are likely to be found in oak wood but, of course, additional work is needed to strengthen and confirm this hypothesis. In addition, based on the sensitivity to oxidation of these compounds, further research could evaluate the impact of the OTR level of the closure on the formation of these thiols during bottle-aging and their impact on the aroma development of the red wine.



**Figure 35.** A: Organic synthesis of vanillylthiol from vanillin including reaction with NaSH (S1) and reduction (S2) according to Floch *et al.* (2016). B: Strategy (stage 1) for sulfide reduction experiments on oak-wood hydroalcoholic extracts (S0) followed by steps S1 and S2.

**Table 28.** Impact of A.R.T. (before step S0 and after, step S2) of “light toasting” oak wood on the sensory descriptors and GC-PFPD signals.

	Stage 1 (initial protocol)		Stage 3 (final protocol)		<i>p</i> -value
	Control (S0) <sup>a</sup>	A.R.T. (S2) <sup>a</sup>	Control (S0) <sup>a</sup>	A.R.T. (S2) <sup>a</sup>	
Sensory descriptors <sup>b</sup>	Vanilla toasted	Bacon, smoky, heavy earthy	Vanilla coconut	Bacon, roasted, meat juice	
Number of peaks <sup>c</sup>	5 (4)	19 (17)	3 (1)	210 (29)	*
$\Sigma$ area <sup>c</sup>	34 (21)	1 266 (129)	49 (3)	32 215 (8 543)	*

<sup>a</sup> Experimental conditions were as stage 1, with oak-wood chips: “light toasting” (A.R.T., S2) or not (control, S0); <sup>b</sup>: n = 4; <sup>c</sup>: determined by GC-PFPD in the 10-60 min range. \*correspond to significant differences (ANOVA, Tukey test, *p*-value <0.05) (n = 2), Standard deviation in parentheses.

**Table 29.** Impact of toasting intensity on aroma and volatile sulfur compound composition of oak-wood extracts before (step S0) and after reaction (step S2).

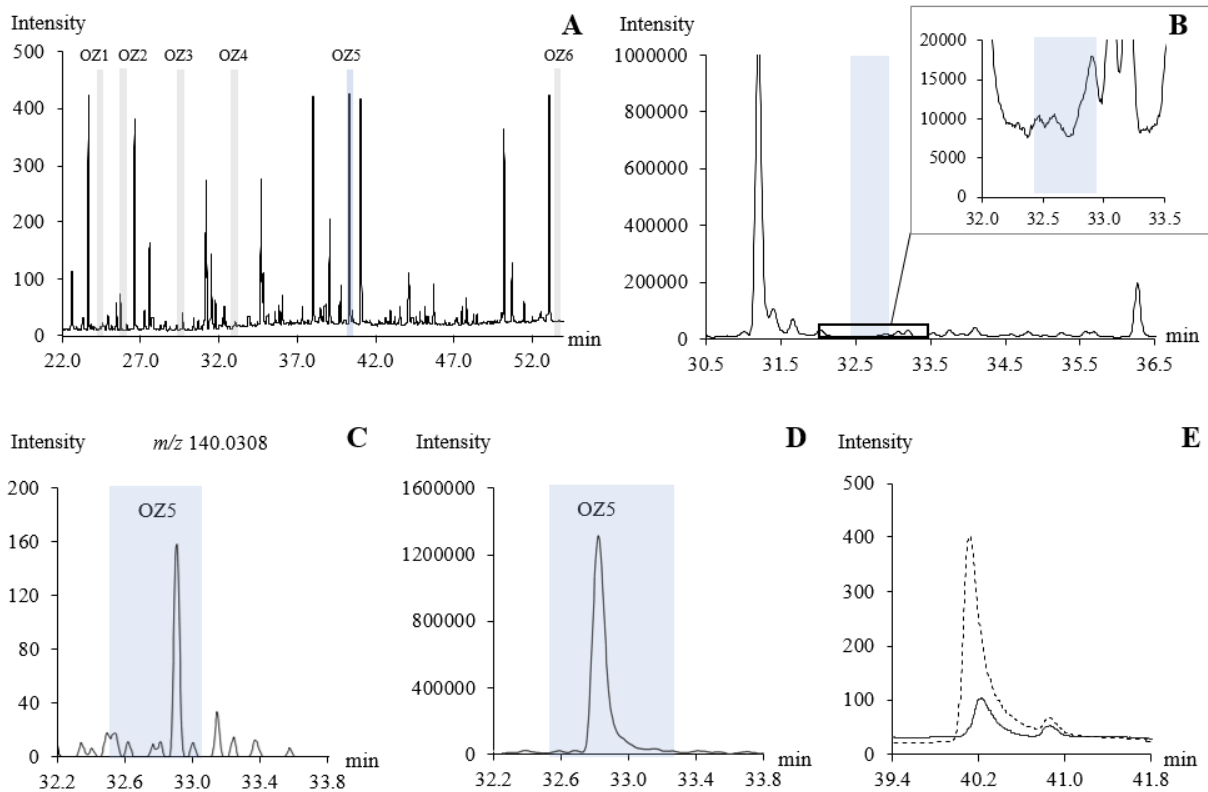
Step	Evaluation parameters	Toasting intensity				<i>p</i> -value <sup>c</sup>
		Non toasted	Light	Medium	Intense	
S0	Odor perception <sup>a</sup>	Fresh wood, sawdust	Vanilla, coconut	Smoky, roasted	Toasted, roasted	
S2	Odor perception <sup>a</sup>	Barbecue, smoky meat juice,	Bacon spicy, smoky, barbecue	Smoky, leather, rubber	Meat juice	
	Number of peaks <sup>b</sup>	70 (1)	80 (43)	12 (3)	39 (9)	ns
	$\Sigma$ area <sup>b</sup>	1825 (298)	2196 (993)	508 (158)	1723 (790)	ns

<sup>a</sup> n = 4, <sup>b</sup> Determined in the 10-60 min range by GC-PFPD, reactions were carried out as in stage 1 but in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at 100 % and with DIBAL as reduction agent. <sup>c</sup> ANOVA, Tukey test, *p*-value <0.05, n = 2. ns: Not significant. Standard deviation in parentheses.

**Table 30.** Identification of “meaty” odorant zones in organic extract of oak-wood samples after A.R.T.

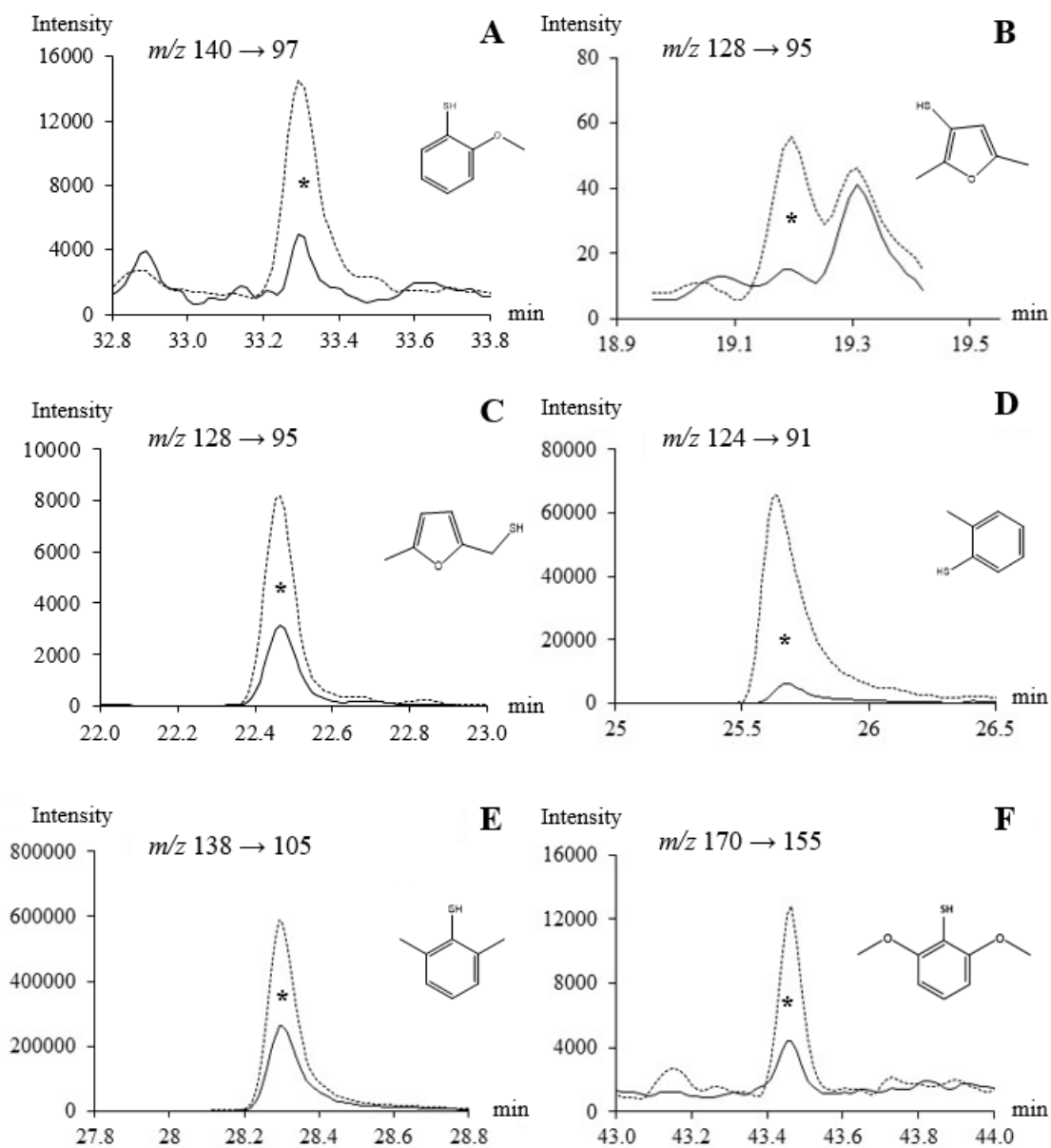
Experimental data				Literature data			Identification methods <sup>c</sup>	Compound	Identification in food products
OZ	LRI polar <sup>a</sup>	LRI non-polar <sup>b</sup>	Odor description	LRI polar	LRI non-polar	Odor description	Oak wood		
OZ1	1392	986	Meat broth	nr	968	Lamb, meat, sulfur	I - II	2,5-dimethyl-3-furanthiol	Coffee (Tressl and Silwar, 1981), chicken-like oily essence (Shao <i>et al.</i> , 2011)
OZ2	1527	1023	Grilled empyreumatic meat	1527	1016	Sulfur, torrefied, grilled	I - II	5-methyl-2-furanmethanethiol	Huangjiu (Zhou <i>et al.</i> , 2019) and coffee (Tressl and Silwar, 1981)
OZ3	1567	1098	Meat broth, garlic	nr	nr	Meat, sulfur, onion, garlic	II	2-methylbenzenethiol	Boiled meat, (Garbusov <i>et al.</i> , 1976) wines (Tomasino <i>et al.</i> , 2023)
OZ4	1659	1225	Grilled meat	1662	1213	Sulfury, meaty, roasted, phenolic	I - II	2,6-dimethylbenzenethiol	Barley beer (Windes <i>et al.</i> , 2021)
OZ5	1861	1239	Bacon, wood, meat juice, smoky	nr	1237	Meaty, smoky, broth, powdery, phenolic	I – II – IV	2-methoxybenzenethiol	Hickory smoke, (Rizzo <i>et al.</i> , 2022) wines (Tomasino <i>et al.</i> , 2023)
OZ6	2242	nr	Woody, smoky, meat broth	nr	nr	Smoky, meat broth	III	2,6-dimethoxybenzenethiol	nr

<sup>a</sup> Polar column BP 20. <sup>b</sup> Non-polar column BPX5. <sup>c</sup> Identification based on: comparison of LRI obtained in this work and those found in the literature (I), analysis by GC-PFPD (II), by GC-MS/MS (III) or by prep-MDGC-O-TOF MS (IV) of co-injected pure compounds with an oak-wood organic extract. nr: Not reported.



**Figure 36.** A: Overlay of GC-O and GC-PFPD data from oak-wood organic extract analysis obtained with reduction protocol stage 3. Odorant zones (OZ) reminiscent of “meaty” notes are coloured. 2D chromatogram corresponding to analysis OZ5 heart-cutting MDGC-O-TOF MS in scan mode ( $m/z$  45-250, B) and with ion  $m/z = 140.0308$  (C). Analysis of 2-MTP solution ( $\sim$ mg/L,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) on MDGC-O-TOF MS method in scan mode ( $m/z$  45-250) (D). Co-injection of organic extract with pure 2-MTP by GC-PFPD on BP 20 polar column (E).





**Figure 37.** Identification of 2-MTP (A), 2,5-dimethyl-3-furanthiol (B), 5-methyl-2-furanmethanthiol (C), 2-methylbenzenethiol (D), 2,6-dimethylbenzenethiol (E) and 2,6-dimethoxybenzenethiol (F) in a Bordeaux red wine aged with oak wood (2008) contact by co-injection on gas chromatography (carbowax column) coupled with tandem mass spectrometer (GC-MS/MS). Black solid chromatograms correspond to wine samples; dashes lines correspond to co-injections with the pure standard compounds.

## Abbreviations

A.R.T.: Accelerated Reductive Treatment; BBD: Box Behnken Design; GC-O: Gas Chromatography coupled with Olfactometry; GC-PFPD: Gas Chromatography coupled with Pulse Flame Photometric Detector; GC-TOF MS: Gas Chromatography coupled with Time of Flight Mass Spectrometry; MDGC-O-TOF MS: Multi-Dimensional Gas Chromatography coupled with Olfactometry and Time of Flight Mass Spectrometry; GC-MS/MS: Gas Chromatography coupled with tandem Mass Spectrometry; HPLC: High Performance Liquid Chromatograph; SPE: Solid Phase Extraction; EI: Electronic Impact; OZ: Odorant zone; LRI: Linear Retention index; FEMA: Flavor Extract Manufacturers Association; OTR: Oxygen Transfer Rate; H<sub>2</sub>S: Hydrogen Sulfide; HCl: Hydrochloric acid; EtOH: Ethanol; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: Dichloromethane; PFTBA: Perfluorotri-n-butylamine; THF: Tetrahydrofuran; LiAlH<sub>4</sub>: lithium aluminium hydride; DIBAL: diisobutylaluminium hydride; MND: 3-methyl-2,4-nonanedione; FFT: 2-furanmethanethiol; VSH: Vanillylthiol; 2-MTP: 2-methoxybenzenthio

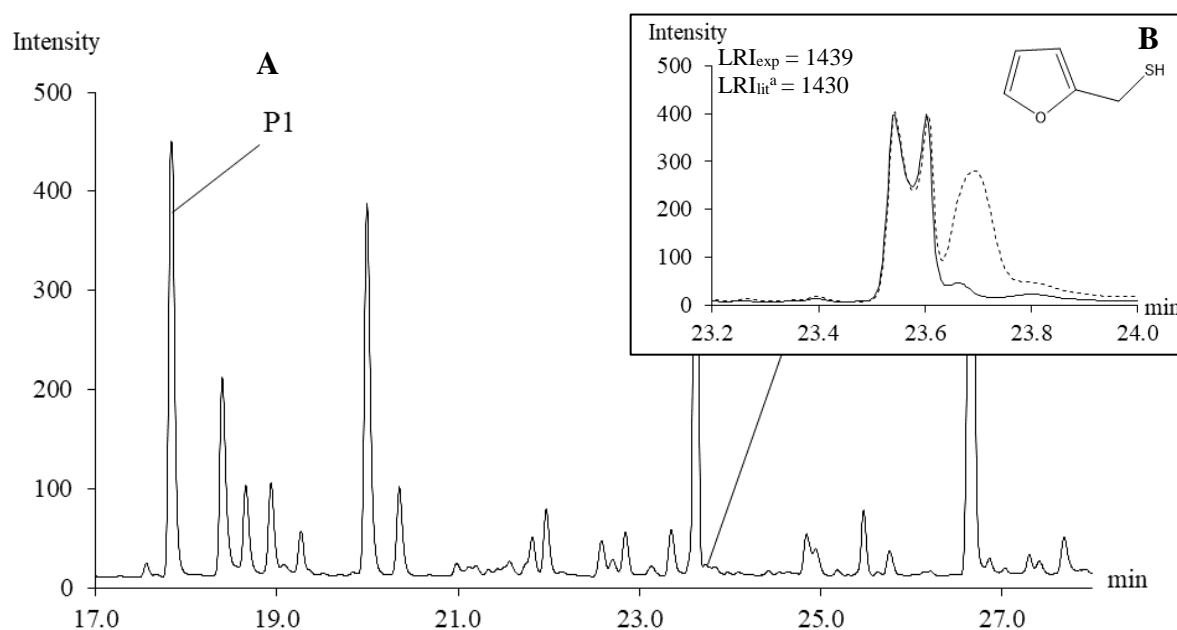
## Acknowledgments

The authors would like to thank DIAM Bouchage France and Region Nouvelle Aquitaine for funding this project. We would like to thank Seguin Moreau cooperation for providing the oak wood samples. The authors also thank Aquitaine Traduction for carefully reviewing the English version of the manuscript.

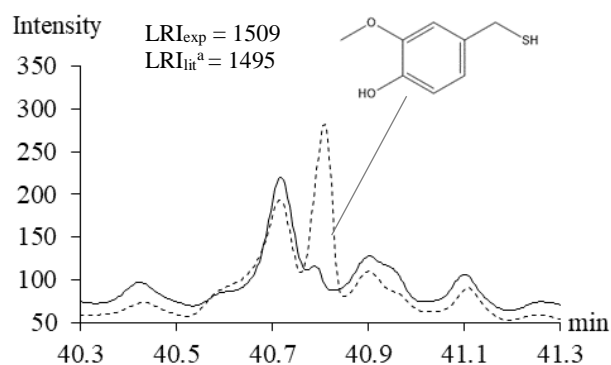
## 5. Supplementary data

**Table S 31.** Experimental design levels of the selected variables

Codes	Variables	Levels		
		-1	0	+1
X1	NaSH. (mg/L)	0	1	8
X2	Time. <i>t</i> (days)	1	3	7
X3	Temperature. <i>T</i> (°C)	20	40	60



**Figure S 38.** Example of chromatogram obtained from an extract of functionalised oak wood (step S2) by GC-PFPD on a polar column with the following parameters: "lightly toasted" oak wood using protocol 2. A. Selection of chromatographic peaks for optimisation of the functionalisation experiment: peak 1 (P1) and peak 2 (FFT) (A). B. Example of FFT co-injection (dotted line). a: Ruther and Baltes. (1994)



**Figure S 39.** GC-PFPD analysis on a non-polar column of full-functionalized oak wood extract “light toasting” oak wood with protocol 2 (solid line). Co-injection with pure vanillylthiol (VSH) (dash line). a: Floch *et al.*, (2016)

**Table S 32.** Impact of reduction agent on the aroma descriptors and chromatographic peaks characteristics obtained by GC-PFPD of oak wood extracts.

Experiment (E)	Reduction agent	Peak number <sup>a</sup>	$\Sigma$ area <sup>a</sup>	Odor perception <sup>b</sup>
1	Control	1	5	Vanilla coconut
2	LiAlH <sub>4</sub>	8	368	Barbecue. paprika.
3	DIBAL	42	1136	Bacon spicy. smoked. barbecue

<sup>a</sup> Determined in the 10-60 min range by GC-PFPD with an automatic integration method. <sup>b</sup> n = 4. Other parameters as stage 1 in dichloromethane 100 %.

**Table S 33.** Impact of extraction solvent on the aroma descriptors and chromatographic peaks characteristics obtained by GC-PFPD of oak wood extracts.

Experiment (E)	Maceration and extraction solvent	Peak number <sup>a</sup>	$\Sigma$ area <sup>a</sup>	Odor perception <sup>b</sup>
1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> <sup>c</sup> 100 %	60	1519	Bacon crisp. animal. sweat
2	EtOH 12 %	192	31698	Vanilla. smoked
3	EtOH 100 %	230	21891	Bacon. roasted. ashes

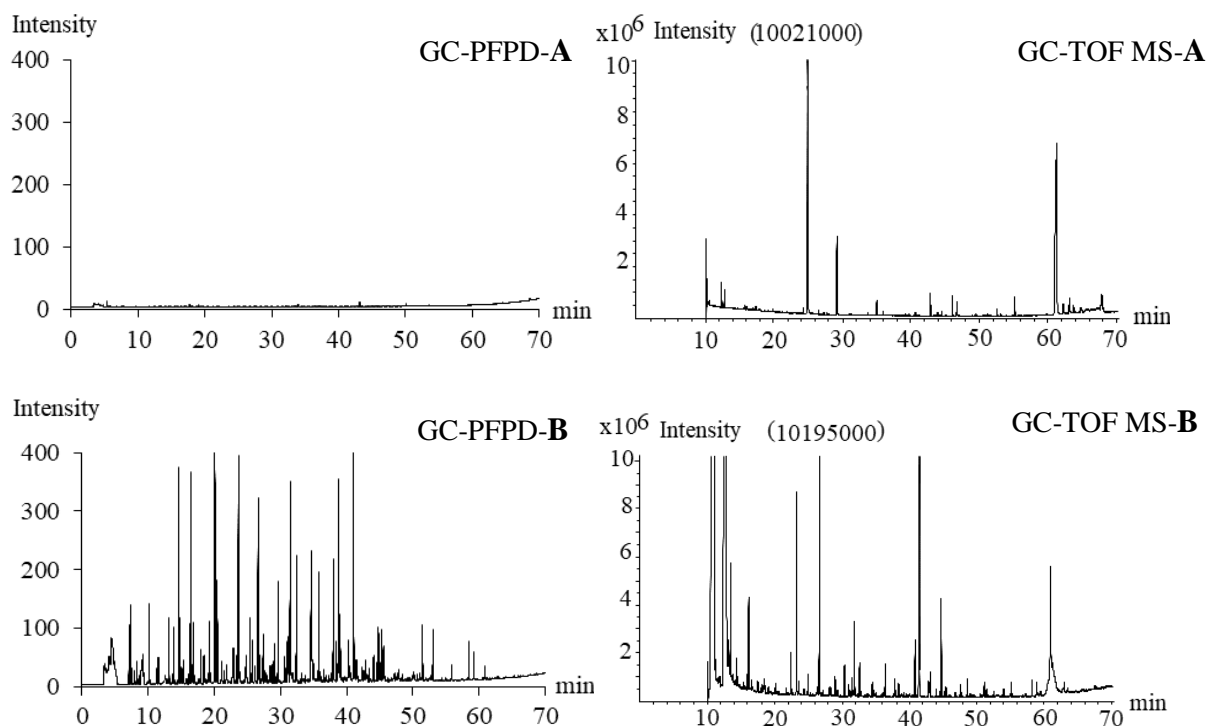
<sup>a</sup> determined in the 10-60 min range by GC-PFPD with an automatic integration method. <sup>b</sup> n = 4. <sup>c</sup> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: Dichloromethane. Others parameters as stage 2 with 8 mg/L of NaSH at 20 °C.

**Table S 34.** Experimental design and integration results: (A1. A2. A3) for the optimization of the reaction between H<sub>2</sub>S and oak wood extract (step S1).

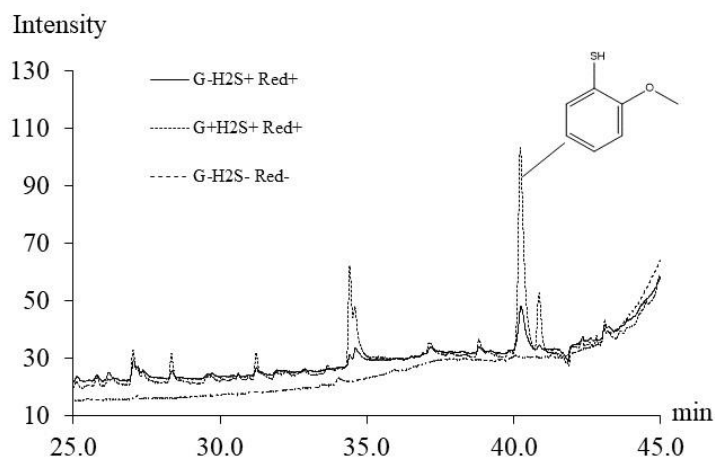
Experiment	Coded variables			Uncoded variables			A1	A2	A3		
	X1	X2	X3	[NaSH] (mg/L)	t (days)	T (°C)	Peaks number	FFT area	peak	P1 area	peak
1	0	-1	-1	1	1	20	174		5		313
2	0	1	-1	1	7	20	121		3		800
3	0	-1	1	1	1	60	13		6		12
4	0	1	1	1	7	60	103		71		469
5	-1	-1	0	0	1	40	2		5		3
6	-1	1	0	0	7	40	26		0		3
7	1	-1	0	8	1	40	168		9		416
8	1	1	0	8	7	40	262		78		2353
9	-1	0	-1	0	3	20	125		14		3
10	-1	0	1	0	3	60	34		5		136
11	1	0	-1	8	3	20	292		99		1491
12	1	0	1	8	3	60	287		58		1268
13	0	0	0	1	3	40	169		6		1333
14	0	0	0	1	3	40	158		5		1298
15	0	0	0	1	3	40	147		5		1338
ANOVA R <sup>2</sup>								0.992	0.92	0.987	
ANOVA <i>p</i> -value								<0.0001	0.002	0.012	

Response optimisation	Desirability			
Solution1	8	5.263	20.000	0.959
Solution2	8	5.263	20.009	0.959
Solution3	8	5.262	20.000	0.959
Solution4	8	5.264	20.000	0.959
Solution5	8	5.264	20.026	0.959

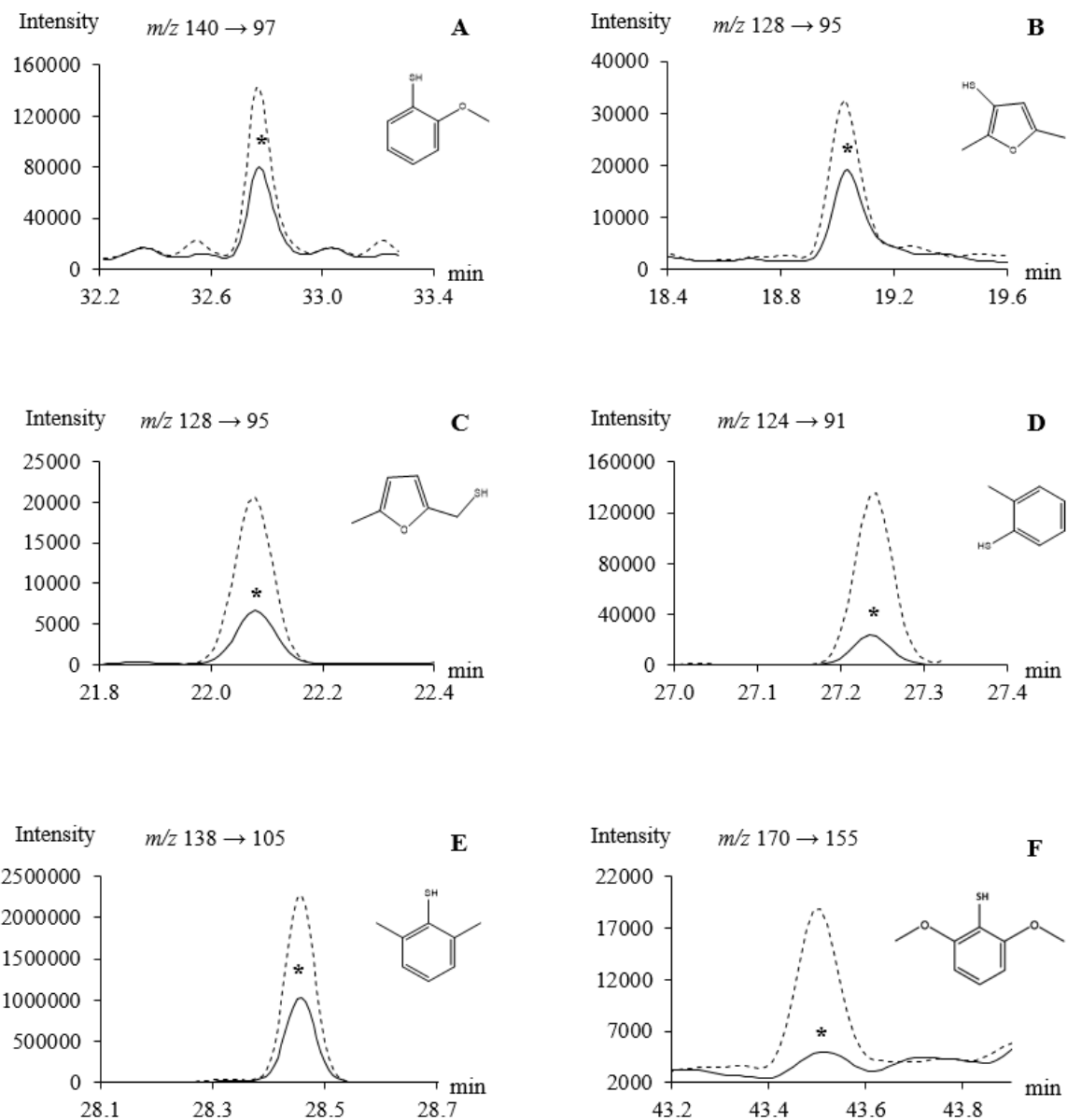
Samples were produced by reactions on “light toasting” oak wood chips (50 g/L) in EtOH 100 % solvent and reduced by DIBAL. X1= NaSH dose (mg/L). X2 = reaction times (days). X3= reaction temperature (°C).



**Figure S 40.** GC-PFPD and GC-TOF MS chromatograms ( $m/z$  45-250) (BP20 column) of oak wood organic extract before (A) and after sulfide reduction (B, stage 3).



**Figure S 41.** PFPD chromatograms of organic extracts obtained from oak samples supplemented (G+) or not (G-) with guaiacol on polar column (BP20). Both non-reductive (G- H<sub>2</sub>S- Red-) and reductive (G- H<sub>2</sub>S+ Red+) were used for the negative control (G-).



**Figure S 42.** Identification of different sulfur-containing compounds responsible of meaty odors in oak wood organic extracts: 2-methoxybenzenethiol (A) 2,5-dimethyl-3-furanthiol (B); 5-methyl-2-furanmethanethiol (C); 2-methylbenzenethiol (D) and 2,6-dimethylbenzenethiol (E), and 2,6-dimethoxybenzenethiol (F) by GC-MS/MS. Black solid chromatograms correspond to non-supplemented oak wood samples ( $H_2S+$ , Red+). Dashed lines correspond to co-injections with the pure compounds.

**Table S 35.** Experimental data and MS detection parameters in SRM mode for sulfur compounds corresponded to six OZ.

Compounds	LRI polar <sup>a</sup>	LRI apolar <sup>b</sup>	GC-MS/MS parameters <sup>c</sup>			
			Retention time (min)	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (V)
2-methoxybenzenethiol	1863	1230	33.30	140	125, 97	10, 15
2.5-dimethylfuranthiol	1386	981	19.18	128	95, 85	10, 10
5-methyl-2-furanmethanethiol	1504	1020	22.45	128	95, 67	15, 20
2-methylbenzenethiol	1594	1088	25.65	124	91, 77	10, 20
2.6-dimethylbenzenethiol	1657	1200	28.30	138	105, 91	10, 15
2.6-dimethoxybenzenethiol	2241	1492	43.45	170	155, 127	10, 15

<sup>a</sup> Polar column BP20. <sup>b</sup> Non polar column BPX5. <sup>c</sup> Polar column CarboWax PLUS.



**Table S6.** Integrated areas of the different co-injections at two different concentrations on a polar column and a non-polar column for each compound identified.

Compounds	Code	Column	RT	Spiked concentrations			Transition	CE (V)	Area		
				C0	C1	C2			C0	C1	C2
2-methoxybenzenethiol	2-MTP	Non-polar <sup>a</sup>	23.63	ns	0.25 µg/L	2 µg/L	140-125	10	7109	512259	800244
			140-97	15	2073	309712	493773				
		Polar <sup>b</sup>	34.78	ns	1.25 µg/L	80 µg/L	140-125	10	12558	24332	153540
			140-97	15	44075	64814	174394				
2,6-dimethoxybenzenethiol	thiosyringol	Non-polar <sup>a</sup>	32.3	ns	0.25 µg/L	2 µg/L	170-155	10	1326	32685	1748854
			170-127	15	740	3095	199424				
		Polar <sup>b</sup>	45.01	ns	1.25 µg/L	80 µg/L	170-155	10	229092	305691	1452644
			170-127	15	200734	253833	1523151				
2,5-dimethyl-3-furanthiol	25DMFT	Non-polar <sup>a</sup>	14.12	ns	0.25 µg/L	2 µg/L	128-95	10	777	2457	16845
			128-85	10	216	578	1757				
		Polar <sup>b</sup>	20.71	ns	1.25 µg/L	80 µg/L	128-95	10	6538	16121	143559
			128-85	10	416	1962	6166				
5-methyl-2-furanmethanethiol	5MFFT	Non-polar <sup>a</sup>	15.56	ns	0.25 µg/L	2 µg/L	128-95	15	214	1008	5473
			128-67	20	nd	nd	nd				
		Polar <sup>b</sup>	23.9	ns	1.25 µg/L	80 µg/L	128-95	15	5826	37837	750240
			128-67	20	4618	6503	39858				
2-methylbenzenethiol	<i>o</i> -thiocresol	Non-polar <sup>a</sup>	18.2	ns	0.25 µg/L	2 µg/L	124-91	10	320681	747682	1190456
			124-77	20	285	1332	6081				
		Polar <sup>b</sup>	27.1	ns	1.25 µg/L	80 µg/L	124-91	10	3684	12829	288519
			124-77	20	18	28	62				
2,6-dimethylbenzenethiol	26DMBT	Non-polar <sup>a</sup>	22.5	ns	0.25 µg/L	2 µg/L	138-105	10	59499	83970	115937
			138-91	15	476	559	1810				
		Polar <sup>b</sup>	29.78	ns	1.25 µg/L	80 µg/L	138-105	10	4222	20892	195041
			138-91	15	1448	2831	14255				

<sup>a</sup> Non-polar BPX5 capillary column (SGE, 50 m, 0.22 mm i.d., 0.25 µm film thickness). <sup>b</sup> Polar column CarboWax PLUS. RT : retention time. ns : Not spiked. nd: Not detected. CE: Collision energy.

## Conclusion

L'hypothèse que nous avons formulée concernant la contribution du bois de chêne à la formation de composés dans les vins au cours du vieillissement s'est avérée fructueuse. Nous montrons qu'une source de composés soufrés, en l'occurrence le NaSH, conservée en présence de bois de chêne permet de former de façon très surprenante des tonalités de « viande grillée ».

Une fois optimisée, la réaction chimique nommée A.R.T (Accelerated Reductive Treatment) a été appliquée à la recherche des composés associées aux six ZO d'intérêt, rapellant ces odeurs empyreumatiques de viande grillée. L'utilisation d'une stratégie guidée à la fois par l'olfaction et la signature chimique des composés par GC-PFPD, nous a orientés vers l'une d'entre elles. Son identification a été réalisée par couplage de la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle préparative couplée à l'olfactométrie et à la spectromètre de masse à temps de vol (GC-PFPD-GC-O-TOF MS): il s'agit du 2-méthoxybenzèthiol (2-MTP) formé à partir de la réaction entre le gaiacol cédé par le bois de chêne et le NaSH. Cette stratégie nous a conduits à identifier par analogie d'autres composés de type thiol formés à partir de cette réaction: le 5-méthyl-2-furanméthanthiol, le 2-méthylbenzèthiol, le 2,6-diméthylbenzèthiol, le 2,6-diméthoxybenzèthiol ainsi que le 2,5-diméthyl-3-furanthiol. L'identification de ces thiols odorants a été validée par GC-MS/MS dans un vin rouge. Ces composés odorants sont déjà décrits dans la nature et les aliments, certains d'entre eux, le 2,6-diméthylbenzèthiol, et le 2,6-diméthoxybenzèthiol sont identifiés pour la première fois dans les vins.

Pour conclure, les conditions que nous venons d'appliquer au bois de chêne occasionnent une profonde modification de sa composition et de son arôme. Cette découverte est aussi surprenante que les perspectives qu'elle ouvre sont passionnantes.



Chapitre 8. Quantification des thiols dérivés du bois de chêne  
(*Q. petraea*) dans les vieux vins rouges



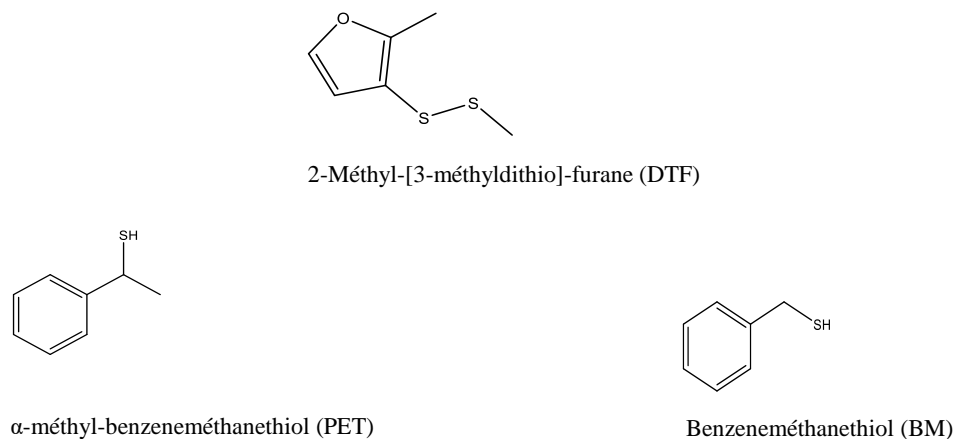
# 1. Introduction

Nous venons d'identifier six thiols volatils rappelant des tonalités de « viande grillée » dans les vieux vins rouges à partir d'un mécanisme impliquant des composés cédés par le bois de chêne au cours de l'élaboration des grands vins. Certains d'entre eux sont identifiés pour la première fois dans les vins alors que d'autres sont décrits pour la première fois dans les vieux vins rouges conservés de nombreuses années en bouteille. Ils viennent compléter la liste de ceux dont la contribution à l'arôme variétal (3SH, 4MSP, A3SH) et au bouquet (FFT, 3SH) est déjà établie.

Le travail de caractérisation développé précédemment nous a amené à nous intéresser à d'autres composés soufrés retrouvés dans la littérature et rappelant des notes empyreumatiques. Nous avons porté notre attention sur des composés déjà décrits dans des boissons alcoolisées et également sur ceux présentant une structure chimique proche de thiols déjà décrits dans les vins. Le premier est le 2-méthyl-[3-méthyl-dithio]-furan (DTF) rappelant un arôme « viandé », le second est le  $\alpha$ -méthyl-benzeneméthanethiol (PET) (Figure 43).

Le DTF a été décrit dans de nombreux aliments et boissons tels que les graines de sésame (Schieberle, 1996), le chocolat (Schnermann & Schieberle, 1997), la viande fumée (Kosowska *et al.*, 2018), les levures (Raza *et al.*, 2020), ou encore le whisky (Lee *et al.*, 2001), l'alcool de patate douce (Ikenaga *et al.*, 2017) ou encore les vins de cépages endémiques des îles Canaries avec un seuil de perception olfactive dans un vin rouge est de 250 ng/L (Culleré *et al.*, 2008). Selon différents auteurs, ce disulfure peut provenir de la réaction d'oxydation impliquant le 2-méthyl-3-furanthiol et le méthanethiol (Mottram, 1998; Parker *et al.*, 2003).

Le PET est un composé rappelant le grillé et le brûlé. Il est beaucoup moins décrit dans les aliments. Identifié en 2008 par Fischer *et al.* (2008) dans les oranges, il contribue également à la perception de notes soufrées grillées et brûlées des feuilles de curry (Steinhaus, 2015). Il a également été identifié dans les fruits tropicaux (Cannon & Ho, 2018). Il est décrit comme un composé pouvant avoir un fort impact sensoriel (Steinhaus, 2015). La structure du PET est proche du benzeneméthanethiol à odeur de pierre à fusil, retrouvé dans les vieux vins de chardonnay (Tominaga *et al.*, 2003a)



**Figure 43.** Structures chimiques du 2-méthyl-[3-méthylthio]-furan (DTF), du  $\alpha$ -méthyl-benzeneméthanethiol (PET) et du benzeneméthanethiol (BM).

Cette dernière partie sera dédiée à l'étude de la distribution et de l'impact sensoriel de ces composés soufrés. Elle sera adossée à un développement méthodologique permettant leur quantification, pour certains d'entre eux, à l'état de traces dans les vins rouges.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Réactifs et produits chimiques

Les 3-octanol (> 99 %), dichlorométhane (HPLC grade), 2-méthoxybenzenethiol (> 97 %), 2-furanméthanethiol (> 98 %), 2,6-diméthylbenzenethiol (95 %), 5-méthylfurfural (99 %), sulfure de diméthyle (99 %) et 2-méthyl-[3-méthylthio]-furan (> 98 %) proviennent de Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). De l'eau ultra-pure a été utilisée pour toutes les préparations d'échantillons et de solutions vins modèles (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, USA). Le 5-méthyl-2-furanméthanethiol (> 95 %) et le 2,6-diméthoxybenzenethiol (> 95 %) proviennent de Enamine (Kiev, Ukraine) tandis que le 2,5-diméthyl-3-furanthiol (> 98 %) provient de BLDpharm (Namiki Shoji Co. Ltd. Japon). Le 2-méthylbenzenethiol (98 %), le méthanol (HPLC grade), et le  $\alpha$ -méthyl-benzeneméthanethiol (98 %) ont été achetés chez Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA). Le 2-méthoxyphénol (gaïacol) (> 99 %) et le furfural (99 %) proviennent de chez Acros Organics (Illkirch, France). Le sulfate de sodium anhydre (99 %) est approvisionné par Prolabo (Lyon, France). L'éthanol (HPLC grade) provient de chez Merck KGaA (Darmstadt, Allemagne),

## 2.2. Sélection des vins

L'étude de la distribution des composés soufrés dans les vins rouges a nécessité l'analyse de très nombreux échantillons sélectionnés selon le millésime, l'itinéraire technique, et également sur la base des tonalités aromatiques associées au bouquet de vieillissement (Tableau 36).

### 2.2.1. Sélection de vieux millésimes pour l'étude de la distribution des composés

Deux premiers vins de l'appellation Bordeaux des millésimes 2007 et 2020 ont été utilisés pour la réalisation du développement et de la validation de la méthode de dosage ainsi que pour la détermination des seuils de perception des composés. Le vin jeune (Chantet Blanet) utilisé au laboratoire comme vin de référence est constitué d'un assemblage de cabernet sauvignon, cabernet franc et merlot tandis que le second (BDX) est constitué exclusivement de merlot. Ces deux vins ont été élaborés sans contact avec le bois de chêne.

Les premiers travaux concernent le dosage des composés dans 17 millésimes (2000 à 2016) provenant de différents crus de la région de la Napa Valley en Californie (NV1 et NV2), de l'appellation Margaux en France (MG) ou encore provenant de Toscane en Italie (IT). Il est à noter que le millésime 2012 du NV1 n'est pas présent dans cette sélection. L'ensemble de ces crus sont connus pour la qualité des vins de cabernet sauvignon (> 60 % dans l'assemblage) qu'ils produisent. A titre d'exemple, l'estimation de la cote du millésime 2016 en 2023 est de 100 € pour NV1, 75 € pour le NV2, 100 € pour le MG et 330 € pour le vin IT. L'ensemble de ces grands vins ont été élevés en barrique de chêne neuves et usagées au moins 12 mois. Ils sont tous bouchés avec des bouchons en liège naturel et conservés par les crus dans des conditions similaires. Les vins ont été analysés en 2023.

### 2.2.2. Sélection de vieux millésimes selon l'intensité du bouquet de vieillissement

Nous avons sélectionné deux vins de Bordeaux. Le premier est un vin du millésime 2004 de l'appellation Saint-Estèphe marqué par un caractère de viande grillée (SE). Le second est issu du millésime 2015 et provient de l'appellation Saint-Julien (SJ) développant un caractère empyreumatique assez subtile. Ces deux vins ont été élevés en barrique neuve et usagée, au moins 12 mois avant d'être mis en bouteille et conservés par chaque cru. Ils sont bouchés par des obturateurs en liège naturel. Une bouteille de chaque cru a été analysée trois fois.



### 2.2.2.1. Sélection de vins jeunes permettant l'évaluation de l'impact de l'élevage sous bois de chêne

Les vins rouges sont issus de l'appellation Pessac Léognan (millésime 2022). Les vins de merlot et de cabernet sauvignon ont été élevés séparément durant 10 mois dans différents contenants composés de deux barriques neuves en chêne (chauffe moyenne, 225 L, BN) de la tonnellerie Seguin Moreau et d'un « wine globe » (WG) provenant de la société Paetzold d'un volume de 220 L. Ce contenant est en verre. Par conséquent, les échanges gazeux sont faibles et le vin ne s'enrichit pas de composés cédés par le bois. L'ensemble des modalités ont été élevées sur lies fines et soutirées 5 mois après entonnage. Les teneurs en SO<sub>2</sub> libre sont ajustées à 25 mg/L durant toute la durée de l'élevage. Ces vins ne présentent pas de défaut de réduction.

**Tableau 36.** Présentation des différents vins analysés

Expérimentation	Code	Millésime	Origine
Référence	V1	2020	Appellation Bordeaux
Impact du vieillissement	IT	2000-2016	Toscane (Italie)
	NV1		Californie ((Etats-Unis)
	MG		Margaux (France)
	NV2		Californie (Etats-Unis)
Caractérisation sensorielle	SE	2004	Marqué par un caractère viandé
	SJ	2015	Marqué par des notes empyreumatiques
Contribution du bois	BN-M	2022	Merlot élevé en barrique
	BN-CS		Pessac Léognan Cabernet sauvignon élevé en barrique
	WG-M		Merlot témoin
	WG-CS		Cabernet sauvignon témoin

### 2.2.2.2. Sélection de vins vieux bouchés par différents types d'obturateurs

Pour cette partie nous avons sélectionné un vin rouge de l'appellation Graves issus d'une étude lancée en 2008 par Pons *et al.* (2022) sur le millésime 2006. Il est issu d'un assemblage composé de 70 % de merlot et 30 % de cabernet sauvignon. Il a été élevé en barrique pendant 10 mois. Ce vin a été bouché avec trois types d'obturateurs microagglomérés (Diam A, B, C), un obturateur synthétique (Synt) et un bouchon en liège naturel (LN). Ces obturateurs présentent des niveaux d'OTR<sub>T0</sub> très différents (

Tableau 37). Deux bouteilles ont été analysées par modalité.

**Tableau 37.** Présentation de la sélection des obturateurs utilisés pour la conservation d'un vin de Graves (millésime 2006).

Bouchon	Code	Longueur (mm)	Diamètre (mm)	OTR <sub>T0</sub> (mg/an) <sup>a</sup>
Microaggloméré	Diam A	44	24.2	0.3
	Diam B	44	24.2	0.4
	Diam C	44	24.2	0.6
Synthétique	Synt	36	22.0	4,6
Liège naturel	LN	45	24.0	<sup>b</sup>

<sup>a</sup> OTR<sub>T0</sub> communiqué par les fournisseurs. <sup>b</sup> Non déterminé car le liège naturel présente une grande variabilité structurelle intrinsèque qui a un impact sur l'OTR.

## 2.3. Quantification des composés soufrés

### 2.3.1. Méthode d'extraction et d'analyse des composés soufrés volatils

La méthode était inspirée de celle décrite par Thibon *et al.* (2015). Les modalités d'extraction des composés par SPE et d'analyse par GC-MS/MS sont les mêmes que celles utilisés pour la quantification des thiols connus : 3SH et FFT. L'extraction est réalisée en phase solide sur un polymère hydrophobe polystyrène-divinylbenzène (Chromabond HR-X) avec dépôt de 20 mL d'échantillon de vin. Les composés volatils ont été élués en deux temps avec 3 mL de mélange de solvants pentane/dichlorométhane (50/50, v/v) et 3 mL de dichlorométhane/méthanol (95/5, v/v). Les phases organiques obtenues ont été mélangées, séchées (sulfate de sodium anhydre) et concentrées à 150 µL sous flux d'azote.

#### 2.3.1.1. Quantification des thiols volatils

La colonne utilisée pour la séparation des composés est une colonne polaire DBWAX (polyéthylène glycol, 50 m × 0,25 mm × 1µm) de Macherey-Nagel (Allemagne). Le four a été programmé en température pour rester 1 minute à 45 °C puis augmenter de 4 °C/min jusqu'à 250 °C puis maintenu à cette température durant 10 minutes.

Les paramètres de la source, y compris la température de la source, l'énergie des électrons, le courant d'émission et la lentille des électrons, ont été fixés à 230 °C, 25 eV, 50 µA et 100 V respectivement. Les conditions SRM ont été optimisées pour chaque composé en termes d'énergie de collision et de valeurs de pression de gaz appliquées à chaque ion précurseur en fonction de chaque transition. L'ion précurseur ( $m/z$ ), l'ion produit ( $m/z$ ) et l'énergie de collision (V) ont été sélectionnés comme suit pour les composés d'intérêt : 2-furanméthanethiol (114, 81 et 5), 3-octanol (101, 83 et 10), 2-méthoxybenzenethiol (140, 97,0, 15), 5-méthyl-2-furanméthanethiol (128, 95, 5), 2-méthylbenzenethiol (124, 91, 10), 2,6-

diméthylbenzenthionol (138, 105, 10), 2,6-diméthoxybenzenthionol (170, 155, 10), 2-méthyl-[3-méthyl-dithio]-furan (159,9, 113, 20) et  $\alpha$ -méthyl-benzeneméthanthionol (137,9, 105, 10).

#### 2.3.1.2. Méthode de quantification spécifique au 2,5-diméthyl-3-furanthionol

Pour la séparation et la quantification du 2,5-diméthyl-3-furanthionol, nous avons sélectionné une colonne apolaire BPX5 (50 m  $\times$  0,22 mm  $\times$  0,25  $\mu$ m SGE). Les conditions chromatographiques sont les suivantes. La température du four a d'abord été réglée à 45 °C pendant 1 minute, puis augmentée de 5 °C/min jusqu'à 180 °C, puis de 30 °C/min jusqu'à 250 °C durant 10 minutes. Les autres paramètres de chromatographie et de détection par spectrométrie de masse sont inchangés. Les ions sélectionnés en MS/MS et l'énergie de collision sont les suivants : 128, 95, 10.

## 2.4. Validation de la méthode

La méthode a été validée dans un vin rouge de Bordeaux jeune de qualité ordinaire (cubi), qui n'a pas été élevé sous bois de chêne. La linéarité a été estimée par la méthode des ajouts dosés selon 6 modalités. L'aire du pic chromatographique mesurée est rapportée à l'aire de l'étalon interne. La répétabilité, exprimée en écart type relatif à la moyenne (% CV), est mesurée à deux niveaux de concentration (10 et 200 ng/L) par plusieurs injections (n = 5) de chacune des modalités. Enfin, la limite de détection et la limite de quantification sont déterminées par le rapport signal/bruit, respectivement égal à 3 et 10.

Chaque analyse d'une série de vin est précédée de l'analyse d'une courbe de calibration. Tous les 30 échantillons un point de cette gamme est analysé afin de s'assurer de la qualité de la mesure et de l'encrassement éventuel du détecteur en masse.

## 2.5. Quantification des composés d'arômes issus du bois de chêne

L'extraction des composés volatils du bois est réalisée sur fibre SPME (50/30  $\mu$ m divinylbenzène/carboxène/polydiméthylsiloxane) selon le protocole décrit par Peterson *et al.* (2020). L'étalon interne est le 3-octanol. La désorption est réalisée à 230 °C pendant 2 min, dans l'injecteur d'un chromatographe 7890B de chez Agilent Technologies.

Le GC est couplé à un spectromètre de masse à temps de vol Pegasus BT 4D de chez Leco. La séparation est réalisée sur une colonne analytique apolaire DB5-MS (50 m  $\times$  0,22 mm  $\times$  0,25  $\mu$ m, Agilent). Le gaz vecteur est de l'hélium (qualité 6.0, Messer) avec un débit de 1 mL/min. La programmation du GC est la suivante : 55 °C (1 min) jusqu'à 250 °C à 4 °C/min, maintenue 1 min à cette température. Les températures de la ligne de transfert et de la source sont respectivement de 260 °C et 250 °C. L'acquisition

est réalisée sur la gamme  $m/z$  45-450. La quantification est réalisée sur les ions suivants : 3-octanol ( $m/z$  83), *cis/trans* whiskey lactone ( $m/z$  99), gaïacol ( $m/z$  124), *o*-crésol ( $m/z$  108), eugénol ( $m/z$  164), furfural ( $m/z$  96), 5-méthylfurfural ( $m/z$  110), 4-éthylgaïacol ( $m/z$  137), 4-éthylphénol ( $m/z$  107).

## 2.6. Analyse sensorielle

### 2.6.1. Détermination des seuils de perception olfactifs

Comme présenté dans le chapitre 3 (2.2.3), les seuils de perception obtenus par des tests triangulaires directionnels de huit concentrations croissantes dans une solution diluée de vin modèle [acide L-(+)-tartrique 5 g/L, 12 % vol, pH 3,5]. Les échantillons ont été présentés entre 16 et 18 °C dans des verres de dégustation noirs de type "XL5" (ISO 8589:2007) identifiés par des codes aléatoires à trois chiffres et recouverts de couvercles en plastique. Le panel était composé de 12 personnes travaillant à l'ISVV et formé à l'analyse des vins et à la perception des arômes. Le seuil de perception des odeurs correspondait à la concentration minimale en dessous de laquelle 50 % des dégustateurs ne parvenaient pas à détecter la différence avec le témoin.

### 2.6.2. Caractérisation sensorielle des profils d'un vin bouché avec différents obturateurs

Le profil monadique a été réalisé sur le vin de Graves (2006). Nous avons évalué l'intensité de différents descripteurs : le fruit frais, végétal, oxydé, hédonique. Les échantillons ont été codés et présentés dans un ordre aléatoire, dans des verres opaques (INAO). La notation a été réalisée sur une échelle non graduée de 0 à 10. Le panel de dégustateurs était constitué de 17 personnes.

## 2.7. Analyses microbiologiques

Les dénombrements des levures totales et bactéries présentes dans les vins rouges en bouteille ont été réalisés par le laboratoire Microflora, interne de l'ISVV et spécialisé dans l'analyse microbiologique des vins. Selon les résultats, l'identification des colonies a été réalisée par Maldi TOF (Vallet-Courbin *et al.*, 2022).

## 2.8. Analyses statistiques

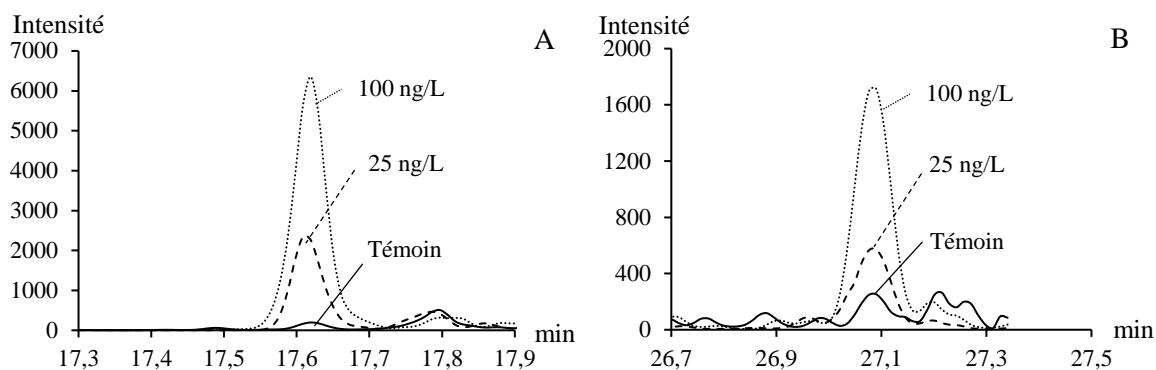
L'ensemble des tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft, France). Les seuils de perception sensorielle ont été calculés à l'aide du logiciel Sigmaplot. Les tests de comparaison des échantillons ont été appliqués selon les modalités de normalité et de nombres d'échantillons pour des échantillons non appariés. Des tests de Student, Mann-Whitney, ainsi que des ANOVA suivis de test *post-hoc* de Tukey ont été appliqués avec un risque  $\alpha$  de 5 %.

## 3. Résultats et discussion

Les thiols dérivés du bois de chêne après traitement réductif A.R.T. ont déjà fait l'objet d'un travail d'identification dans les vieux vins au cours de l'étude présentée dans le chapitre précédent. De la même manière le 2-méthyl-[3-méthyl-dithio]-furane (DTF) est également un composé déjà identifié dans les vins rouges. En revanche, le composé aux tonalités empyreumatiques dont nous souhaitons connaître la distribution n'a jusqu'alors, pas été décrit dans les vins. Aussi, la première étape de ce travail a consisté à valider la présence du  $\alpha$ -méthyl-benzeneméthanthiol (PET) dans les vins rouges pour ensuite étudier sa distribution ainsi que celle de l'ensemble des composés soufrés dans les vins rouges jeunes et âgés.

### 3.1. Identification du $\alpha$ -méthyl-benzeneméthanthiol dans les vins rouges

Le PET est disponible dans le commerce. Après optimisation et sélection des meilleures transitions en spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS), nous avons vérifié la présence de ce composé dans un vin de référence (V1) : l'extrait organique du vin témoin a été dopé avec deux niveaux de concentrations différentes : 25 et 100 ng/L (Figure 44). Les trois extraits organiques ont été analysés sur colonnes apolaire BPX5 et polaire DBWAX. Les résultats présentés dans la Figure 44 confirment la présence de ce composé dans un vin rouge jeune.



**Figure 44.** Analyse par GC-MS/MS sur colonnes apolaire BPX5 (A) et polaire DBWAX (B) d'un extrait de vin rouge jeune dopé (25 et 100 ng/L) ou non en PET.

### 3.2. Développement d'une méthode de dosage

Le développement de la méthode de quantification des composés soufrés a nécessité l'utilisation de deux colonnes de polarité différente (polaire et apolaire) pour atteindre un niveau suffisant de résolution des pics chromatographiques. Dans un second temps, nous avons optimisé les paramètres de détection en masse tels que le choix des transitions entre les ions parents et les ions fils et l'énergie de collision, pour atteindre le meilleur ratio signal sur bruit (S/N) (Tableau 38). Ce travail nous a permis de sélectionner les ions utilisés pour la quantification (IQ) des composés et les ions permettant de confirmer leur détection (ID). La méthode a ensuite été validée en termes de linéarité, répétabilité, limite de détection et de quantification. Ces paramètres ont été validés dans un vin rouge de référence. S'agissant du 3SH et du FFT la méthode de quantification a déjà été validée par ailleurs (Thibon *et al.*, 2015). Aussi cette partie est consacrée aux composés identifiés dans le cadre de ce travail.

Concernant la répétabilité, la majorité des valeurs se situent en dessous de 10 % exceptée pour deux composés : le thiosyringol (11,7 %) et l'*o*-thiocrésol (12,7 %). Ces niveaux restent toutefois acceptables. Pour chacun des composés, la linéarité est calculée pour une gamme de concentration couvrant les teneurs retrouvées dans les vins. Le niveau de linéarité obtenu est supérieur à 0,99. Les limites de détection (S/N = 3) et de quantification (S/N = 10) sont relativement faibles. Les valeurs de LOD et LOQ sont comprises respectivement entre 0,3 - 14,8 ng/L et 0,9 - 44,3 ng/L pour le PET et le thiosyringol.

**Tableau 38.** Validation de la méthode de quantification des composés soufrés dans un vin rouge.

Composé	Synonymes	Abréviation	Colonne	Transitions (MS/MS)			Gamme de concentration (ng/L)	R <sup>2</sup>	CV <sup>d</sup> (%)	LOD <sup>e</sup> (ng/L)	LOQ <sup>f</sup> (ng/L)
				IP <sup>a</sup>	IQ <sup>b</sup>	ID <sup>c</sup>					
2-méthoxybenzenethiol	2-méthoxythiophénol, thiogaiacol	2-MTP	DBwax	140	97 (15)	125 (10)	LOQ-1600	0,999	6,2	34	102
5-méthyl-2-furanméthanethiol	5-méthyl-furfurylthiol	5MFFT	DBwax	128	95 (5)	67 (20)	LOQ-200	0,999	9,2	0,8	2,5
2-méthylbenzenethiol	<i>o</i> -toluenethiol	<i>o</i> -thiocrésol	DBwax	124	91 (10)	77 (10)	LOQ-400	0,996	12,7	9,2	27,7
2,6-diméthylbenzenethiol	2,6-diméthylthiophénol	26DMBT	DBwax	138	105 (10)	91 (15)	LOQ-400	0,997	1,7	3,5	10,5
2,6-diméthoxybenzenethiol	2,6-diméthoxythiophénol,	thiosyringol	DBwax	170	155 (10)	127 (15)	LOQ-4000	0,992	11,7	14,8	44,3
2-méthyl-3-(méthylthio)furan	2-méthyl-3-méthylthiofuran	DTF	DBwax	159,9	113 (20)	112 (15)	LOQ-200	0,993	4,6	0,9	2,8
$\alpha$ -méthyl-benzeneméthanethiol	1-phényléthanethiol	PET	DBwax	137,9	105 (10)	77 (10)	LOQ-200	0,995	2,1	0,3	0,9
2,5-diméthyl-3-furanthiol	2,5-diméthylfuran-3-thiol	25DMFT	BPX5	128	95 (10)	85 (10)	LOQ-2000	0,991	7,6	0,1	0,3

<sup>a</sup> Ion Parent, <sup>b</sup> ion de quantification, <sup>c</sup> ion de qualification, <sup>d</sup> coefficient de variation (n = 5), <sup>e</sup> limite de détection, <sup>f</sup> limite de quantification

### 3.3. Quantification des composés soufrés dans les vins rouges

#### 3.3.1. Distribution dans les vins rouges de cabernet sauvignon conservés plusieurs années en bouteille

Une fois la méthode de quantification validée nous l'avons appliquée à l'étude de la distribution de ces composés dans de nombreux vins rouges. Aux composés décrits dans le Tableau 38 nous avons complété notre sélection par la quantification de deux autres thiols d'impact, le 3SH et le FFT.

Dans un premier temps, il s'agissait de connaître leur concentration et leur distribution selon l'âge du vin. Pour cette raison nous avons sélectionné 17 millésimes consécutifs compris entre 2000 et 2016 de différents crus issus de grandes régions viticoles reconnues pour la qualité de leurs vins rouges (Tableau 39).

L'ensemble des composés identifiés sélectionnés dans le cadre de ce travail ont été retrouvés dans les vins rouges. Le 3SH est présent dans l'ensemble des différents crus avec des concentrations comprises entre 177 ng/L et 2559 ng/L. Cette variabilité est souvent expliquée par une diminution de ce composé au cours de la conservation (Ugliano *et al.*, 2011). Le FFT, un thiol connu pour sa contribution aux notes torrifiées est retrouvé jusqu'à 54,7 ng/L, niveau de concentration proche de ceux retrouvés dans la littérature (Tominaga & Dubourdieu, 2006).

Certains thiols sont présents dans tous les millésimes à des concentrations variables alors que le 26DMTF et l'*o*-thiocrésol semblent plutôt spécifiques aux vins d'Italie et de Margaux (IT, MG). Ils ne sont retrouvés que dans les millésimes les plus anciens et ne sont pas détectés dans les vins les plus jeunes. Le DTF est retrouvé plus rarement dans notre sélection de vin et surtout dans certains vieux millésimes.

S'agissant des composés 5MFFT, 25DMTF, PET et DTF, les valeurs maximales sont faibles. Pour chacun d'entre eux elles atteignent 28,1 ng/L, 13,7 ng/L, 22,1 ng/L et 5,4 ng/L. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en 2-MTP augmentent selon le millésime et peuvent atteindre plus de 1 µg/L dans le millésime 2000 du vin IT. Sa valeur moyenne est proche de 200 ng/L. L'*o*-thiocrésol a déjà été identifié dans les vins rouges mais ses concentrations n'ont, à notre connaissance, jamais été décrites. Dans notre sélection sa concentration est comprise entre 15,9 ng/L et 209,9 ng/L. Le 26DMTF atteint des teneurs maximales de 89,1 ng/L tandis que le thiosyringol est le composé retrouvé en plus forte concentration dans les millésimes les plus anciens: jusqu'à plus de 2,6 µg/L dans le millésime 2000 du vin italien (IT).



**Tableau 39.** Résultats du dosage des composés soufrés dans des vins rouges de la Napa Valley (NV1, NV2), d'Italie (Toscane, IT) et de Bordeaux (appellation Margaux, MG) sur plusieurs millésimes consécutifs (2000-2016).

Vin	Millésime	3SH	FFT	2-MTP	5MFFT	<i>o</i> -thiocrésol	26DMFT	thiosyringol	25DMFT	PET	DTF
		ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
IT	2000	218,9	tr	1100,9	4,3	106,2	33,3	2633,2		22,1	nd
	2001	1178,1	tr	334,2	3,2	74,7	15,6	92,6		8,5	nd
	2002	784,0	tr	316,8	4,3	70,8	22,6	699,0		4,5	nd
	2003	177,6	0,6	152,6	3,8	69,7	8,2	607,7		2,9	nd
	2004	245,0	0,3	231,4	4,1	56,0	4,0	1010,6		3,4	nd
	2005	446,3	0,4	355,0	5,4	82,8	12,2	1045,3		5,2	nd
	2006	255,0	1,0	205,5	3,5	36,1	7,4	622,6		3,0	nd
	2007	359,6	1,2	51,2	1,7	33,7	4,7	910,4		3,7	nd
	2008	1920,4	0,3	46,4	4,7	25,0	tr	656,0	nq	2,5	nd
	2009	445,7	0,3	tr	1,6	23,3	5,0	1428,4		2,3	nd
	2010	507,2	tr	417,5	3,4	28,3	8,2	1134,9		1,8	nd
	2011	702,7	0,6	tr	6,2	33,8	7,6	1079,9		2,9	nd
	2012	231,9	0,5	284,2	1,5	25,9	8,2	1272,0		1,6	nd
	2013	446,3	1,1	tr	2,6	28,9	7,9	1021,7		0,7	nd
	2014	300,8	tr	tr	1,8	19,0	4,2	695,6		0,9	nd
	2015	469,5	0,7	89,5	0,9	15,3	tr	981,0		tr	nd
2016	nd	tr	152,6	1,3	tr	3,8	536,6		tr	nd	
NV1 x	2000	346,3	38,3	49,0	4,1	25,5	9,3	425,1		2,5	tr
	2001	317,9	48,3	42,3	5,3	20,8	tr	63,0		3,5	5,4
	2002	442,7	29,9	77,0	2,8	10,6	tr	319,6		1,2	tr
	2003	315,5	36,1	136,1	3,5	tr	tr	2564,2		0,6	3,1
	2004	283,6	24,6	tr	1,2	tr	tr	1492,8		0,4	1,3
	2005	344,0	29,1	110,5	2,6	tr	tr	1082,7		0,6	tr
	2006	354,1	22,6	63,3	tr	tr	tr	71,0		0,5	tr
	2007	177,3	37,0	94,1	2,5	tr	tr	259,7		tr	2,0
	2008	305,8	18,4	tr	1,2	tr	tr	277,0	nq	tr	tr
	2009	220,1	21,0	tr	1,2	tr	tr	109,1		0,3	tr
	2010	249,0	11,2	tr	tr	tr	tr	243,3		0,3	tr
	2011	438,9	12,7	tr	tr	tr	tr	246,2		tr	tr
	2013	1747,6	29,0	tr	2,3	tr	tr	484,1		tr	tr
	2014	1562,4	30,3	95,5	tr	tr	tr	440,3		tr	tr
	2015	1383,0	19,2	77,9	3,0	tr	tr	196,6		tr	tr
	2016	2558,9	25,4	tr	2,3	tr	tr	207,2		0,3	tr

X le millésime 2012 n'a pas été analysé. nd : Non détecté. nq : Non quantifié. tr : Traces correspond à des teneurs inférieures à la LOD.

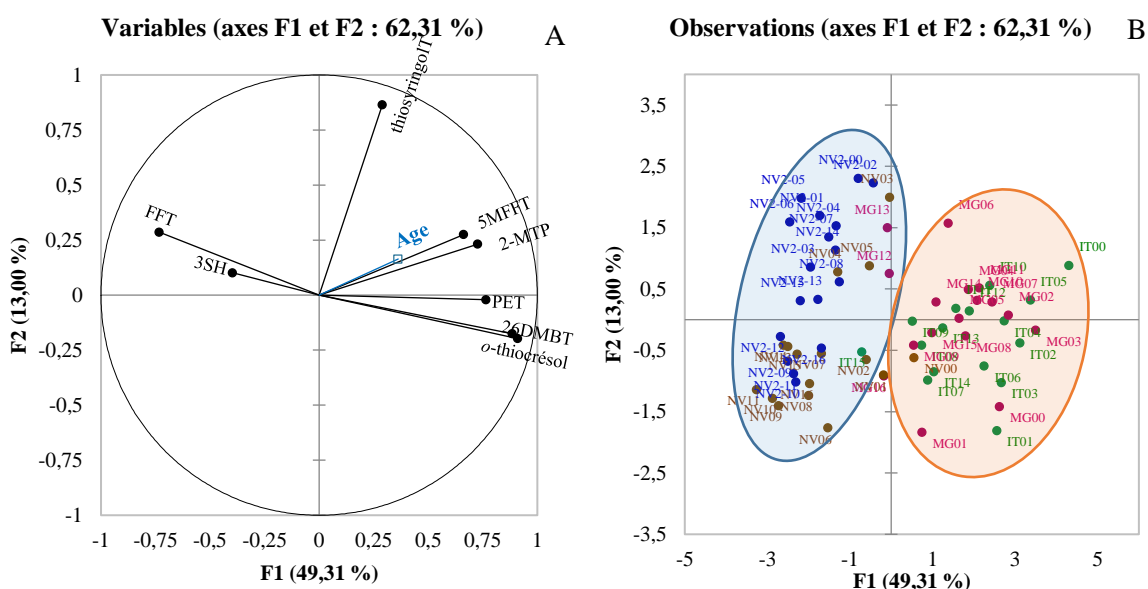
**Tableau 18 Suite.** Résultats du dosage des composés soufrés dans des vins rouges de la Napa Valley (NV1, NV2), d'Italie (Toscane, IT) et de Bordeaux (appellation Margaux, MG) sur plusieurs millésimes consécutifs (2000-2016).

Vin	Millésime	3SH	FFT	2-MTP	5MFFT	<i>o</i> -thiocrésol	26DMFT	thiosyringol	25DMFT	PET	DTF
		ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
MG	2000	249,0	8,8	228,6	5,1	68,0	21,3	120,3	7,5	1,7	nd
	2001	472,6	11,9	151,0	2,8	37,3	16,1	56,6	1,9	0,4	nd
	2002	388,1	17,5	269,4	9,7	89,7	37,5	838,7	1,2	1,8	nd
	2003	359,8	2,8	206,8	28,1	209,9	89,1	932,4	tr	6,9	nd
	2004	340,1	3,7	312,0	3,8	24,7	7,8	1057,4	1,1	1,2	nd
	2005	305,7	4,5	222,8	3,2	29,6	7,7	989,9	13,7	0,8	nd
	2006	274,9	7,4	258,8	4,3	17,9	7,7	1846,6	6,7	tr	nd
	2007	294,0	5,8	191,4	3,8	40,8	30,8	1086,9	1,9	0,9	nd
	2008	369,4	5,8	376,4	3,3	19,2	8,7	653,8	0,4	2,0	nd
	2009	383,5	14,0	119,5	2,9	17,5	5,2	646,1	0,8	1,7	nd
	2010	456,4	11,0	382,6	3,7	26,9	16,6	985,8	0,2	1,7	nd
	2011	425,5	11,7	381,3	2,9	34,1	19,1	1122,0	0,8	1,3	nd
	2012	521,7	10,0	tr	3,8	25,0	5,5	1461,3	0,3	0,3	nd
	2013	410,9	9,6	61,0	11,7	25,7	tr	1654,3	8,7	tr	nd
	2014	588,8	15,6	134,1	4,2	23,6	9,2	938,7	0,7	0,8	nd
	2015	579,6	4,0	97,2	4,9	30,0	17,4	787,6	0,3	tr	nd
2016	728,6	3,0	81,8	2,3	16,1	8,2	613,2	1,0	0,4	nd	
NV2	2000	1074,4	36,3	188,8	3,1	tr	tr	1692,8		1,2	tr
	2001	633,7	30,4	120,2	2,6	tr	tr	1255,6		0,7	tr
	2002	378,9	42,2	159,2	5,3	tr	tr	1256,4		1,0	tr
	2003	596,9	34,6	56,7	2,4	tr	tr	1022,1		0,6	tr
	2004	331,6	28,7	125,8	3,1	tr	tr	1170,6		0,3	tr
	2005	805,3	47,8	94,4	1,8	tr	tr	1486,3		0,7	1,1
	2006	1606,1	54,7	77,6	1,5	tr	tr	1309,2		0,5	tr
	2007	657,2	27,1	69,4	3,9	tr	tr	1075,2		0,4	tr
	2008	527,9	34,5	105,4	3,4	tr	tr	673,2	nq	0,5	tr
	2009	756,4	37,8	76,9	1,5	tr	tr	205,8		0,5	tr
	2010	576,0	18,1	67,3	1,5	tr	tr	199,3		0,5	tr
	2011	527,2	13,3	tr	1,7	tr	tr	359,0		0,3	tr
	2012	1219,8	36,1	54,1	1,7	tr	tr	447,0		tr	tr
	2013	1422,5	25,5	52,1	4,0	tr	tr	504,2		0,6	tr
	2014	1275,9	17,0	98,6	1,6	tr	tr	1375,9		tr	tr
	2015	1422,4	28,1	139,1	2,8	tr	tr	455,5		tr	tr
2016	2165,9	25,0	169,1	2,3	tr	tr	219,4		tr	tr	

nd : Non détecté. nq : Non quantifié. tr : Traces correspond à des teneurs inférieures à la LOD.

Une analyse en composante principale (ACP) à été réalisée (Figure 45 A) pour représenter les quatre crus en fonction des thiols et de « l'âge » des vins correspondant à leur durée de conservation représentée en variable supplémentaire. En raison de leur faible fréquence d'apparition dans les différents crus (Tableau 39), le DTF et le 25DMFT n'ont pas été retenus dans l'ACP.

Les deux composantes principales permettent d'expliquer respectivement 49,31 % (F1) et 13,00 % (F2) pour une variance totale de 62,31 %. Les nouveaux thiols sont bien représentés selon l'axe horizontal et présentent une distribution et une évolution similaire, et à l'exception du thiosyringol (TS) dont la représentation est orthogonale. Les teneurs en FFT et 3SH semblent être distribuées à l'inverse de ces composés et de la durée de conservation en bouteille. Par ailleurs, cette analyse montre que les vins de la Napa Valley sont plus riches en 3SH et FFT alors que les vins MG et IT contiennent des teneurs en thiols dérivés du bois plus importantes (Figure 45 B).



**Figure 45.** ACP des différents thiols d'intérêt et de l'âge des vins (variable supplémentaire) pour les quatre crus analysés (A). Graphique des scores répartissant les différents échantillons selon l'axe vertical (B). En bleu, les vins de Californie NV1 et NV2. En orange, les vins de Bordeaux (MG) et de Toscane (IT).

Nous confirmons ces premières observations par l'évaluation des niveaux de corrélation par l'approche non paramétrique de Spearman (Tableau 40). Le 3SH est un marqueur bien connu des vins blancs et des vins rouges dont la sensibilité aux phénomènes oxydatifs le rend instable durant la conservation en bouteille ( $r = -0,440$ ,  $p\text{-value} = 0,0003$ ). Le FFT contribuant aux tonalités torréfiées des vins est présent à des concentrations relativement stables pour les différents millésimes d'un même cru ( $r = 0,062$ ,  $p\text{-value} = 0,627$ ). Ce thiol est connu pour sa grande instabilité en lien avec sa

réactivité dans les vins rouges. Aussi, il n'est pas exclu que des mécanismes de formation et de dégradation intervenant simultanément puissent expliquer cette stabilité dans le temps.

Dans ces vins rouges, les teneurs en 5MFFT ( $r = 0,345$ ,  $p\text{-value} = 0,005$ ), en *o*-thiocrésol ( $r = 0,298$ ,  $p\text{-value} = 0,017$ ), en PET ( $r = 0,591$ ,  $p\text{-value} < 0,0001$ ) et 2-MTP ( $r = 0,332$ ,  $p\text{-value} = 0,008$ ) sont positivement et significativement corrélées avec l'âge des vins. En revanche, celles du 26DMBT ne sont pas corrélées avec l'âge ( $r = 0,208$ ,  $p\text{-value} = 0,100$ ). Pour autant les concentrations les plus élevées sont retrouvées dans les vins les plus vieux : MG, 2003 ; IT 2000 (Tableau 39).

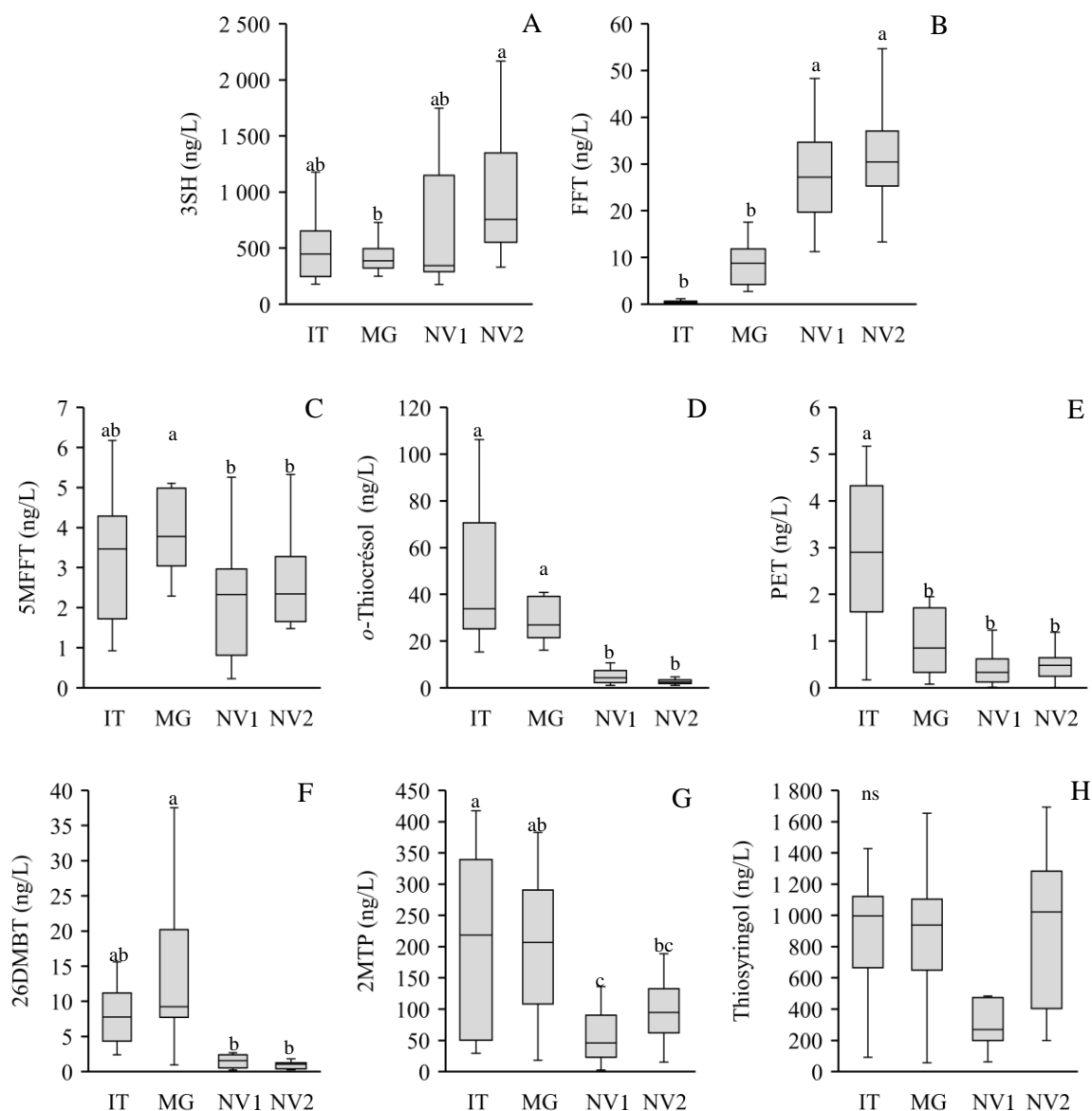
**Tableau 40.** Corrélation de Spearman estimée entre les composés et l'âge du vin associé à la durée de conservation en bouteille.

Composé	Matrice de corrélation	<i>p</i> -value
FFT	0,062	0,627
5MFFT	<b>0,345</b>	<b>0,005</b>
<i>o</i> -Thiocrésol	<b>0,298</b>	<b>0,017</b>
PET	<b>0,591</b>	<b>&lt;0,0001</b>
26DMBT	0,208	0,100
3SH	<b>-0,440</b>	<b>0,0003</b>
2-MTP	<b>0,332</b>	<b>0,008</b>
Thiosyringol	0,133	0,296

Les valeurs en gras sont significatives au risque  $\alpha < 5\%$

S'agissant des différences de distribution des composés selon le cru, la Figure 46 nous montre que certains composés sont retrouvés préférentiellement dans certains crus voire dans certaines régions viticoles. Par exemple, pour l'ensemble des millésimes analysés, le vin de Toscane contient significativement plus de PET que l'ensemble des autres vins et plus d'*o*-thiocrésol et de 2-MTP que les vins provenant de la Napa Valley. De la même manière le vin de Margaux contient significativement plus de 26DMBT, de 5MFFT et d'*o*-thiocrésol que les deux vins des Etats-Unis. En revanche, ces vins présentent des teneurs en FFT nettement plus marquées. Les concentrations en thiosyringol sont semblables quel que soit le cru.

Cette première approche de quantification dans différents vins conservés entre 4 et 21 ans en bouteille, fait la lumière sur l'impact de la durée de conservation sur la distribution de ces nouveaux composés. Ces analyses révèlent la très grande variabilité de distribution de ces composés d'un cru à un autre, très probablement en lien avec une composition singulière du vin jeune et des conditions de vieillissement qu'il reste à étudier.



**Figure 46.** Box plot des concentrations en 3SH (A), FFT (B), 5MFFT (C), *o*-Thiocrésol (D), PET (E), 26DMBT (F), 2-MTP (G) et Thiosyringol (H) pour les vins de Toscane (IT, n = 17), de Margaux (MG, n = 17), et de la Napa Valley (NV1, n = 16 et NV2, n = 17). Les lettres différentes correspondent à des différences significatives  $p < 0,05$  (ANOVA suivi d'un test *post-hoc* de Tukey).

### 3.3.2. Contribution de l'élevage sous bois de chêne à la présence de ces composés

Si nous faisons abstraction du 3SH dont l'origine variétale est acquise et du DTF qui est un disulfure pouvant provenir de l'oxydation d'un thiol connu (2-méthyl-3-furanthiol), l'ensemble des thiols analysés dans ce travail ont été retrouvés dans des extraits organiques de bois de chêne ayant subi une réduction chimique nommée A.R.T. (Accelerated Reductive Treatment). Par conséquent, il est

fort probable que leur formation dans les vins rouges, qu'ils soient jeunes ou âgés, soit associée à la présence de précurseurs cédés par le bois de chêne.

Ainsi, cette partie est dédiée à l'étude de l'impact de l'élevage sous bois de chêne sur la formation des thiols et des composés soufrés au cours de la conservation en bouteille des grands vins rouges.

### 3.3.2.1. Impact de la présence de précurseurs cédés par le bois de chêne sur la formation des thiols au cours du vieillissement en bouteille

#### 3.3.2.1.1. Analyses chimiques des composés du bois et microbiologiques

Parmi les vins analysés précédemment, nous avons sélectionné celui de la Napa Valley (NV1) riche en FFT, pour évaluer sa composition en composés du bois de chêne (Tableau 41). Les composés volatils ont été analysés par SPME GC-TOF MS. Ils correspondent aux précurseurs pressentis et cédés par le bois de chêne et sont accompagnés des composés connus pour être retrouvés en quantités importantes dans les vins élevés sous bois.

Ces analyses montrent l'augmentation des teneurs en furfural, 5-méthylfurfural, gaïacol, *o*-crésol, et eugénol selon l'âge du millésime. Les millésimes les plus anciens sont plus riches en composés du bois. Seules les formes *cis* et *trans* de la whiskey lactone (WL, odeur de noix de coco) semblent être relativement stables après plusieurs années de conservation, alors que leurs concentrations peuvent augmenter lors de la première année de conservation (Pérez-Prieto *et al.*, 2003). Si l'on met de côté le millésime 2000, elles sont relativement stables. Ainsi, il est probable que cette augmentation selon le millésime et par conséquent la durée de vieillissement soit modulée par leurs teneurs dans le vin jeune. Elles traduisent très probablement une modification de la conduite de l'élevage sous-bois de chêne par l'utilisation d'une proportion de bois neuf plus faible ou des bois ayant reçu une intensité de chauffe moins élevée. En effet, l'application de chauffes moyennes à élevées favorisent la formation de ces composés (Chatonnet, 1995).

**Tableau 41.** Résultats du dosage des composés du bois dans le vin rouge de la Napa Valley (NV1, NV2), sur plusieurs millésimes consécutifs (2000 à 2016).

Vin	Millésime	Gaïacol	Furfural	5-Méthylfurfural	<i>o</i> -Crésol	Eugénol	<i>cis</i> WL	<i>trans</i> WL
		µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
NV1x	2000	22,3	164,6	28,3	4,1	18,3	243,5	467,6
	2001	17,1	77,9	17,4	2,6	13,1	181,0	322,6
	2002	20,2	103,5	25,8	5,0	14,9	195,8	361,7
	2003	10,6	82,6	19,2	3,7	8,8	169,9	250,5
	2004	13,8	92,3	17,4	4,2	9,7	166,4	261,4
	2005	13,7	110,7	14,4	4,1	10,3	164,4	278,5
	2006	9,2	59,6	9,1	1,9	8,1	111,8	260,3
	2007	6,3	85,9	14,6	2,7	5,4	120,9	196,7
	2008	7,8	60,0	10,7	2,3	8,4	116,7	272,1
	2009	9,3	44,8	5,6	1,8	9,6	125,1	287,4
	2010	7,7	46,8	6,5	2,9	9,7	170,8	274,5
	2011	5,2	64,0	7,1	1,8	7,2	149,3	213,3
	2013	4,0	37,7	6,2	0,7	7,0	132,3	227,2
	2014	3,3	43,4	6,7	0,6	7,3	164,0	231,4
	2015	3,7	42,0	9,3	0,7	7,6	167,0	222,0
	2016	2,9	35,8	6,9	0,6	7,9	185,5	241,5

X le millésime 2012 n'a pas été analysé.

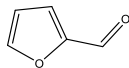
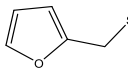
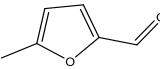
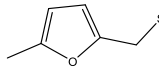
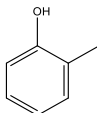
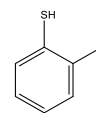
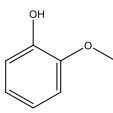
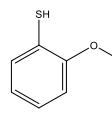
En complément de ces analyses, nous nous sommes assurés que l'évolution de la composition des vins au cours de la conservation en bouteille était due uniquement à des modifications chimiques. En effet, il n'est pas rare de rencontrer des développements microbiens lors de la conservation en bouteille même si le déterminisme de cette évolution reste peu étudié (Cibrario *et al.*, 2019). Pour cela, nous avons évalué la population microbienne résiduelle de l'ensemble des millésimes du vins NV. Nous montrons que la population en levures et bactéries est inférieure à 1 cellule/10 mL (résultats non présentés).

### 3.3.2.1.2. Mise en évidence du rôle des composés du bois de chêne comme précurseurs d'arôme

Les résultats présentés dans le Tableau 42 font état du niveau de significativité des corrélations de Spearman entre les thiols et leurs précurseurs présumés retrouvés dans le bois de chêne. Le niveau de corrélation est élevé pour les dérivés de furanes tels le FFT ( $r = 0,710$ ,  $p$ -value = 0,006) et le 5MFFT ( $r = 0,679$ ,  $p$ -value = 0,010). La  $p$ -value obtenue pour le 2-MTP est de 0,059 soit légèrement au-dessus du seuil de 5 %. Tandis que l'*o*-thiocrésol n'est pas significativement corrélé avec le *o*-crésol ( $p$ -value = 0,155), certainement en raison des faibles teneurs retrouvées dans le cru considéré.

Les corrélations sont positives et montrent qu'une quantité de précurseurs plus importante induit une présence de thiols en quantité également plus importante. Pour ces raisons, nous nous sommes intéressés à l'influence de l'élevage en barrique de chêne sur leurs teneurs dans le vin jeune.

**Tableau 42.** Evaluation des niveaux de corrélation entre les teneurs en précurseurs et leurs dérivés soufrés dans un vin rouge de Napa Valley (NV) provenant de l'analyse des millésimes successifs compris entre 2000 et 2016

Précurseur présumé	Structure chimique	Dérivé de type Thiol	Structure chimique	Coefficient de corrélation (Spearman)	<i>p-value</i>
Furfural		FFT		<b>0,710</b>	<b>0,006</b>
5-Méthylfurfural		5MFFT		<b>0,679</b>	<b>0,010</b>
<i>o</i> -Crésol		<i>o</i> -Thiocrésol		0,374	0,155
Gaïacol		2-MTP		0,521	0,059

Les valeurs en gras sont significatives au risque  $\alpha$  5 %.

### 3.3.2.2. Distribution des thiols volatils dans un vin en fin d'élevage conservé ou non au contact du bois

Afin de mettre en évidence la contribution de l'élevage sous bois de chêne à la formation des thiols à odeur de « viande grillée », nous avons étendu notre étude à l'analyse de ces composés dans deux vins rouges en fin d'élevage. Ces analyses sont complétées par les composés du bois de chêne. Nous avons analysé un vin de cabernet sauvignon et un vin de merlot élevés en barrique (BN) ou en cuve en verre (WG) après 10 mois d'élevage. Le protocole expérimental, compte tenu de son cout financier, ne nous a pas permis de disposer de plusieurs répliques biologiques pour la cuve en verre. Aussi, nous avons décidé, afin de consolider les résultats de l'analyse statistique, d'assembler les résultats obtenus pour les deux cépages au sein des deux modalités BN et WG.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 43. Après 10 mois d'élevage, les teneurs en FFT et 3SH sont identiques entre les deux modalités avec ou sans apport de bois. En revanche, les composés du bois que nous avons analysés (furfural, gaïacol et vanilline) présentent des concentrations significativement plus importantes dans la modalité (BN), le vin élevé en barrique neuve. S'agissant



du FFT ce résultat est surprenant au regard de ses teneurs retrouvées dans la littérature (Tominaga & Dubourdieu, 2006). Ses teneurs en fin d'élevage en barrique sont le plus souvent bien supérieures à celle d'un vin élevé en cuve. Toutefois, il n'est pas exclu que certaines modalités d'élevage puissent expliquer ce résultat.

En ce qui concerne le 5MFFT et le 26DMBT, les teneurs retrouvées dans le vin élevé en barrique (BN) sont également significativement plus importantes. Le 25DMFT, l'*o*-thiocrésol et le PET sont retrouvés à des concentrations moyennes deux fois supérieures dans le vin élevé en barrique neuve. En revanche, le 2-MTP, le thiosyringol ou encore le DTF n'ont pas été détectés dans ces vins.

Ces vins étant en fin d'élevage il est probable que la cinétique de formation de certains dérivés soufrés soit très lente et ne permette par leur formation dans le vin jeune. D'ailleurs, les résultats de ces dosages sont en adéquations avec ceux obtenus lors de l'analyse des vins après quelques années de conservation en bouteille. Les teneurs de certains thiols sont proches de celles retrouvées dans les millésimes les plus jeunes, notamment le 2016 (Tableau 39). Ces premières observations sont encourageantes mais elles devront être confirmées par d'autres essais.

Au regard de ces premiers résultats obtenus sur des vins en cours d'élevage et conservés en bouteille de nombreuses années, nous montrons que la durée de conservation influence fortement l'accumulation et la distribution de certains thiols. Pour cette raison nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'impact sensoriel de ces composés.

**Tableau 43.** Comparaison des teneurs en thiols des vins de merlot et cabernet sauvignon élevés (BN) en barrique neuve ou en cuve de verre (WG).

Composé	BN (n = 8) <sup>a</sup>	WG (n = 4) <sup>a</sup>	<i>p</i> -value
3SH (ng/L)	316,0 (101,2)	418,9 (169,4)	0,283
FFT (ng/L)	3,6 (2,9)	3,8 (2,3)	0,683
25DMFT (ng/L)	7,8 (9,7)	3,4 (5,1)	0,570
5MFFT (ng/L)	3,65 (3,3)	0,3 (0,5)	<b>0,028</b>
<i>o</i> -Thiocrésol (ng/L)	39,9 (35,1)	22,2 (9,9)	0,570
PET (ng/L)	0,8 (0,8)	0,4 (0,8)	0,683
DTF (ng/L)	tr	tr	-
2-MTP (ng/L)	nd	nd	-
26DMBT (ng/L)	15,2 (8,2)	4,5 (2,4)	<b>0,008</b>
Thiosyringol (ng/L)	nd	nd	-
Furfural (µg/L)	948,7 (205,6)	50,2 (28,4)	<b>0,004</b>
Gaïacol (µg/L)	11,7 (2,7)	6,2 (0,9)	<b>0,004</b>
Vanilline (µg/L)	166,5 (28,5)	14,2 (3,9)	<b>0,004</b>

<sup>a</sup> Les valeurs correspondent à l'agrégation des concentrations détectées dans un lot de vin de merlot et de cabernet sauvignon. nd : Non détecté. tr : Traces, correspond à des teneurs inférieures à la LOD. Les écart-types sont présentés entre parenthèses. Les valeurs en gras sont significatives au risque  $\alpha$  5 %.

### 3.4. Evaluation de l'impact sensoriel

#### 3.4.1. Détermination des seuils de détection

Dans un premier temps nous avons déterminé les seuils de détection olfactive de l'ensemble de ces composés en solution modèle de composition proche du vin (12 % vol. EtOH, 5 g/L Ac. tartrique, pH 3,5) et dans un vin rouge jeune de l'appellation Bordeaux (2020). Au préalable, nous avons analysé ce vin rouge qui n'a pas été élevé au contact du bois de chêne afin de s'assurer de leur absence ou de leurs faibles concentrations. Par la suite et sur la base de ces résultats nous avons calculé la valeur d'activité olfactive de chacun d'entre eux (odor activity value, OAV) à partir des valeurs maximales retrouvées dans les vins précédemment analysés (Tableau 39). Cette valeur correspond au rapport entre la concentration du composé et son seuil de détection. L'ensemble des résultats est présenté dans le Tableau 44.

**Tableau 44.** Détermination des seuils de détection olfactive (Sd) et de la valeur OAV des composés.

Composés	Abréviation	Sd (ng/L)		Cmax <sup>a</sup>	OAV max	
		Solution modèle	Vin rouge		Solution modèle	Vin rouge
2-Méthoxybenzenethiol	2-MTP	610	2490	1100,9	<b>1,8</b>	0,4
5-Méthyl-2-furanméthanethiol	5MFFT	0,8	8,3	28,1	<b>33,1</b>	<b>3,4</b>
2-Méthylbenzenethiol	<i>o</i> -Thiocrésol	97,1	632	209,9	<b>2,2</b>	0,3
2,6-Diméthylbenzenethiol	26DMBT	1640	5900	89,1	0,1	0,0
2,6-Diméthoxybenzenethiol	Thiosyringol	420000	nd	2633,2	<0,01	Nd
2-Méthyl-3(méthyl-dithio)furan	DTF	2,3	4,5	5,4	<b>2,3</b>	<b>1,2</b>
$\alpha$ -Méthyl-benzeneméthanethiol	PET	0,4	0,4	22,1	<b>61,4</b>	<b>58,2</b>
2,5-Diméthyl-3-furanthiol	25DMFT	5,4	56,2	13,7	<b>2,6</b>	0,2

<sup>a</sup> Concentration maximale retrouvée dans le tableau 4. nd Non déterminé. Les valeurs en gras sont pour des OAV > 1.

A l'exception du 26DMBT et du thiosyringol, l'ensemble des seuils en solution modèle sont très bas, de l'ordre du ng/L. Les seuils de détection sont de 1 à 10 fois plus élevés dans les vins rouges et traduisent l'impact de la matrice sur la perception de ces composés. Par exemple, le PET présente un seuil de détection de 0,4 ng/L en solution modèle et dans un vin rouge. A l'inverse, le 25DMFT présente un seuil de 5,4 ng/L en solution modèle et 10 fois plus élevé dans un vin rouge. Le seuil de détection le plus élevé correspond au thiosyringol, évalué à 420  $\mu$ g/L. En raison de son faible pouvoir odorant, son seuil dans un vin rouge n'a pas été réalisé. Les seuils du 2-MTP sont de 610 ng/L et 2,49  $\mu$ g/L respectivement en solution modèle et dans le vin rouge.

Ainsi, sur la base de ces résultats nous pouvons conclure sur l'impact sensoriel de l'ensemble des composés identifiés dans le cadre de ce travail excepté les 26DMBT et thiosyringol. A partir de notre sélection de vins, nous montrons également que le PET, le DTF et le 5MFFT, présentant des valeurs respectives d'OAV de 58,2, 1,2, et 3,4 contribuent directement à l'arôme du vin rouge conservé de nombreuses années en bouteille.

Ces résultats préliminaires nous ont encouragés à poursuivre nos investigations vers la caractérisation moléculaire du bouquet de vieillissement en lien avec la formation de tonalités empyreumatique et de viande grillée.

### 3.4.2. Caractérisation moléculaire des vins rouges développant un bouquet de vieillissement

La difficulté de ce type d'investigation réside dans la complexité de la sélection des vins. En effet, il est difficile de prédire le type d'évolution d'une bouteille de vin sans avoir à la déguster. Comme le

disait Emile Peynaud, « il n’y a pas de grands vins il n’y a que des grandes bouteilles », faisant ainsi référence à l’impact de l’hétérogénéité du bouchon en liège sur l’évolution d’un vin.

Pour cela, une sélection à la fois longue et attentive a été menée sur de nombreux vins rouges de la région de Bordeaux pour finalement sélectionner deux vins de cabernet sauvignon présentant des tonalités empyreumatiques caractéristiques du bouquet de vieillissement.

Le premier vin est un Saint-Julien (SJ) du millésime 2015 et développe un caractère fumé, torréfié. Le second provient de Saint-Estèphe (SE) du millésime 2004. Il est marqué très nettement par des tonalités de viande grillée. Les résultats des dosages sont présentés dans le Tableau 45. Le vin SJ présentant des notes de torréfaction contient des teneurs significativement plus importantes en FFT, 5MFFT et *o*-thiocrésol. A l’inverse, le vin SE caractérisé par des tonalités de viande grillée contient des teneurs en 2-MTP, PET et 26DMBT supérieures au vin SJ, bien qu’elles restent inférieures à leur seuil de détection respectifs. En revanche, nous montrons que dans ces deux vins, les teneurs en PET sont supérieures au seuil de détection. Par ailleurs, il serait intéressant de finaliser ce bilan analytique par la quantification du 2,5-diméthyl-3-furanthiol (25DMFT) composé très odorant identifié dans le cadre de ce travail, qui malheureusement n’a pu être dosé dans ces vins.

**Tableau 45.** Comparaison des teneurs en thiols dans un vin marqué par des notes empyreumatiques (SJ) et un vin marqué par des notes viandées (SE).

Composé	Concentrations retrouvées dans les vins		<i>p-value</i> *
	SJ	SE	
3SH	<b>124,3 (14,2)</b>	<b>83,5 (14,7)</b>	ns
FFT	<b>13,1 (1,4)</b>	<b>5,1 (1,4)</b>	0,026
5MFFT	<b>15,1 (1,9)</b>	<b>4,2 (2,0)</b>	0,006
<i>o</i> -Thiocrésol	<b>282,5 (119,7)</b>	34,0 (13,3)	<0,0001
PET	<b>4,0 (0,5)</b>	<b>6,1 (0,4)</b>	0,037
26DMBT	13,2 (1,5)	21,1 (5,2)	0,044
2-MTP	36,3 (12,4)	140,5 (10,9)	0,016

\*Test de Student après transformation Log. Les écart-types sont notés entre parenthèses. Les analyses ont été réalisées en triplicat sur chaque bouteille. En gras figurent les concentrations supérieures au seuil de perception (Sp) en solution modèle.

Aussi, au regard des similarités de structure et d’odeurs entre les composés étudiés, il n’est pas exclu que des phénomènes d’interactions perceptives puissent intervenir et renforcer l’impact non pas d’un composé mais d’une famille de composés comme cela a déjà été démontré pour la série des  $\gamma$ -lactones (Ferreira, 2012). Bien entendu, des études complémentaires visant à étudier ce phénomène d’additivité des thiols dérivés du bois de chêne sur la perception de la tonalité de « viande grillée » sont à envisager dans le futur.

### 3.5. Impact de l'OTR des obturateurs sur les teneurs en thiols volatils dérivés du bois de chêne

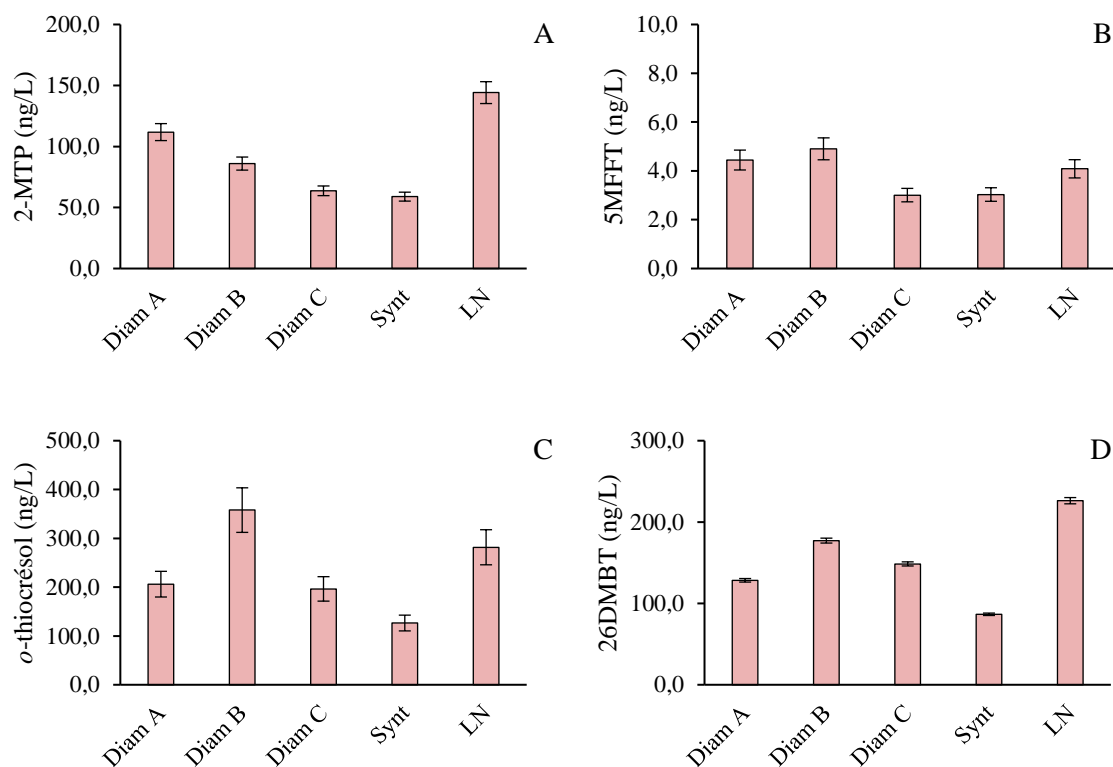
Dans la littérature, les principaux thiols volatils retrouvés dans les vins jeunes sont connus pour être sensibles vis-à-vis des phénomènes oxydatifs. C'est pour cette raison que nous avons cherché à déterminer l'influence du type d'obturateur et de sa perméabilité à l'oxygène sur les teneurs en thiols volatils dérivés du bois de chêne retrouvés dans les vins rouges de Bordeaux conservés de nombreuses années en bouteille.

#### 3.5.1. Impact du type d'obturateur et du type de vin

Le dosage des thiols identifiés dans le cadre de ce projet a été étendu à un vin rouge de l'appellation Graves du millésime 2006 et bouché par différents obturateurs. Composé en majorité de merlot, il a été mis en bouteille avec trois obturateurs microagglomérés Diam (A, B, C), un obturateur synthétique et un bouchon en liège naturel.

Après 14 ans de conservation en bouteille, nous avons dosé les thiols volatils suivants : 2-MTP, 5MFFT, *o*-thiocrésol, 26DMBT, PET et DTF (Figure 47). Les deux derniers composés n'ont pas été détectés dans les différents échantillons. Pour les autres, les concentrations sont variables selon le type d'obturateur. Par exemple, les concentrations en 2-MTP sont comprises entre 58,9 et 144,2 ng/L, soit des niveaux nettement inférieurs à son seuil de détection (Sd 610 ng/L). De la même façon, les teneurs en 26DMBT sont faibles, comprises entre 86,6 et 226,3 ng/L et nettement inférieures au seuil de détection (Sd 1640 ng/L). En revanche, le 5MFFT est retrouvé à des concentrations comprises entre 3,0 et 4,9 ng/L (Sd 0,8 ng/L) alors que celles de l'*o*-thiocrésol s'élèvent de 126,5 à 357,8 ng/L (Sd 97,1 ng/L). Ainsi, selon le type d'obturateur ces deux composés semblent être impliqués dans l'arôme de ce vin rouge élaboré à partir de lots de merlot élevés en barrique de chêne.

En général, après 14 ans de conservation, plus l'OTR<sub>T0</sub> du bouchon est élevé plus la teneur en thiol volatil est faible. Cette situation est rencontrée systématiquement pour le vin bouché avec un obturateur synthétique à OTR<sub>T0</sub> élevé (4,6 mg/an). En revanche, seule la mesure de l'OTR après 14 ans de conservation en bouteille accompagnée par une évaluation sensorielle des vins, permettra de mesurer précisément l'impact de l'OTR sur la distribution de ces composés d'arôme en lien avec le bouquet de vieillissement des vins rouges.



**Figure 47.** Teneurs en 2-MTP (A), 5MFFT (B), *o*-thiocrésol (C) et 26DMBT (D) retrouvées dans un vin de Graves bouchés par des obturateurs en liège microaggloméré Diam (A, B, C) et synthétique (Synt.) classés selon leur OTR<sub>T0</sub> croissant (Tableau 37), et un bouchon en liège naturel (LN). Les analyses ont été réalisées après 14 ans de conservation.

## 4. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons présenté les résultats du dosage des 7 composés thiols dérivés du bois de chêne et identifiés grâce à la mise au point de la méthode A.R.T. développée dans le chapitre précédent. Pour ce faire nous avons utilisé une méthode développée au laboratoire pour le dosage des thiols variétaux des vins par GC-MS/MS après extraction sur colonne SPE.

Ce travail analytique a été étendu à un thiol et un disulfure rappelant respectivement des notes « empyreumatiques » et de « viande grillée » : le PET et le DTF. Ces deux composés sont décrits dans la nature mais leur distribution est peu documentée dans les vins. Le PET a été identifié pour la première fois dans les vins.

Nous avons analysé de très nombreux vins rouges principalement élaborés à partir du cépage cabernet sauvignon et élevé en barrique. Ils sont issus de millésimes variés et proviennent de différentes régions viticoles situées en France (Bordeaux), en Italie (Toscane) et aux Etats Unis (Californie). L'ensemble des analyses a permis de mettre en évidence un premier impact de la durée de conservation sur la formation de ces molécules. Les teneurs les plus importantes sont souvent retrouvées dans les millésimes les plus anciens, après 21 ans de conservation. Sur la base de ces analyses, nous montrons que les composés ayant une contribution très importante à l'arôme des vins rouges sont le 5-méthyl-furfurylthiol (torréfié), le 1-phényléthanthiol (brulé, grillé) et le 2-méthyl-3-(méthyldithio)furan (viande grillée).

L'analyse de ces vins rouges a permis de révéler la contribution de l'élevage sous-bois de chêne sur la formation de thiols dérivés du bois (2-MTP, 5MFFT) dans le vin jeune et sur leur formation au cours de la conservation en bouteille.

Par ailleurs, la qualité de l'obturateur, par son niveau d'OTR, semble jouer un rôle important sur leur distribution au cours du vieillissement du vin rouge.

L'ensemble des données acquises au cours de ce chapitre nous permet d'apporter un éclairage nouveau sur la distribution et l'origine de ces thiols à odeur de viande grillée. Toutefois, ces analyses chimiques devront être complétées par un travail d'analyse sensorielle permettant une meilleure compréhension de leur implication dans la genèse du bouquet de vieillissement dans grands vins rouges.

## Conclusion générale et perspectives





Un vieillissement en bouteille de qualité correspond à une évolution du vin vers une complexité supérieure à celle qu'il possédait dans sa jeunesse. En cela, la composition du vin et les conditions de conservation sont d'une importance capitale et conditionnent son évolution vers un bouquet synonyme d'équilibre et d'originalité ou au contraire, vers une évolution oxydative banalisante.

La valorisation économique d'un grand cru repose sur l'équilibre de ses arômes et de ses saveurs caractéristiques de sa jeunesse au même titre que son aptitude à évoluer harmonieusement au fil du temps. On voit ainsi l'ampleur des retombées économiques pour quiconque arriverait à préserver cette aptitude au vieillissement, qui reste à ce jour un sujet aussi complexe que le nombre de travaux menés sur le sujet reste insuffisant.

Les travaux développés dans le cadre de ce projet de recherche ont vocation à compléter nos connaissances sur la caractérisation moléculaire de l'évolution de l'arôme des vins blancs et rouges en lien avec la qualité de l'obturateur, c'est-à-dire sa perméabilité à l'oxygène (oxygen transfer rate, OTR).

Les sujets traités sont les suivants :

- Etude de l'impact du choix de l'obturateur sur la qualité de conservation des vins de sauvignon au sein d'une grande appellation de vins blancs de Bordeaux.
- Etude de l'impact niveau d'OTR des systèmes d'obturation après 12 ans de conservation sur la composition et l'équilibre sensoriel des vins blancs de sauvignon.
- Caractérisation moléculaire du bouquet de vieillissement des vins rouges en lien avec le niveau d'OTR des obturateurs.

Ce travail a débuté par l'étude de l'impact du choix de l'obturateur sur la qualité du vieillissement des vins de sauvignon provenant d'une même appellation. En effet, de nombreux travaux ont déjà décrit l'impact de l'obturateur sur un type de vin donné mais peu d'informations sont retrouvées sur son impact sur l'ensemble d'une appellation produisant des vins de qualité mais selon des pratiques viticoles et œnologiques différentes. En somme, l'inné prime-t-il sur l'acquis, la composition du vin prime-t-elle sur la qualité du bouchage ?

Les 32 vins de cette appellation (millésime 2015) sont bouchés par deux types de bouchons : les lièges naturels et les lièges microagglomérés à perméabilité contrôlée, provenant de différents fournisseurs. Nous avons réalisé la caractérisation chimique (composition en thiols volatils, aldéhydes de Strecker, DO<sub>420</sub>, SO<sub>2</sub> libre) et l'évaluation sensorielle (typicité, bouquet de vieillissement, oxydation) de ces vins conservés 5 ans en bouteille. Nos résultats révèlent l'impact significatif du type d'obturateur sur la qualité de vieillissement en bouteille, quand bien même les vins blancs sont élaborés avec des qualités de raisins différentes (niveaux de maturité différents) et des teneurs en SO<sub>2</sub> libre à l'embouteillage très variables. La qualité d'évolution des vins blancs bouchés avec des bouchons en liège naturel est très variable alors que ceux bouchés avec des lièges microagglomérés ne sont pas oxydés même si certains d'entre eux présentaient des teneurs en SO<sub>2</sub> libre assez basses (~10 mg/L) à l'embouteillage.

Ces résultats ont été complétés par une analyse exhaustive de nombreux vins de sauvignon conservés 12 ans en bouteille et bouchés avec les principaux types d'obturateurs retrouvés sur le marché: capsules à vis, synthétiques, lièges microagglomérés et naturels. Ce travail a été réalisé sur la base d'une étude lancée en 2008 par la société DIAM bouchage en collaboration avec l'ancienne faculté d'œnologie de Bordeaux. Dans un premier temps, nous avons adapté la mesure du transfert d'oxygène par un détecteur coulométrique à nos conditions expérimentales. L'OTR des systèmes d'obturation (bouchon + col de la bouteille) a été mesuré après découpe du col de la bouteille. Au total, 88 échantillons ont été analysés.

Nous montrons que les niveaux d'OTR<sub>12 ans</sub> sont compris entre 0,05 mg/an et 89,11 mg/an. Les valeurs les plus faibles sont retrouvées pour les capsules à vis et le liège microaggloméré présentant tous deux des OTR<sub>T0</sub> respectifs faibles de 0,1 et 0,3 mg/an. En somme, il semble que plus la valeur d'OTR<sub>T0</sub> est élevée, plus la fatigue mécanique du bouchon sera rapide, favorisant l'augmentation de son OTR au cours de la conservation. Il est à noter que le bouchon synthétique utilisé dans le cadre de cette étude présente un OTR<sub>T0</sub> relativement élevé (0,6 mg/an) mais stable dans le temps. La gamme d'OTR la plus étendue est retrouvée pour les bouchons en liège naturel compris entre 0,12 et 89,11 mg/an.

L'analyse des marqueurs de la qualité et des défauts sur 32 vins de cette sélection nous a permis de montrer que l'évolution analytique et sensorielle est significativement voire fortement corrélée à la valeur d'OTR<sub>12 ans</sub>. Nous proposons une structuration en trois groupes de la gamme d'OTR moyens à 12 ans selon leurs niveaux en thiols volatils ainsi qu'en aldéhydes de Strecker : G1 (0,27 mg/an), G2 (0,82 mg/an) et G3 (14,73 mg/an). Le groupe G1 présente les niveaux de thiols volatils les plus élevés (3SH > 800 ng/L, FFT > 30 ng/L) alors que le groupe G3 présente les échantillons les plus oxydés, c'est-à-dire ceux contenant des teneurs en méthional supérieures à 25 µg/L. Un travail complémentaire d'analyse sensorielle montre l'impact de l'OTR sur l'intensité du caractère oxydé, le bouquet de vieillissement et le niveau de typicité de ces vins. Il révèle également l'impact de la capsule à vis sur le développement du caractère « pétrolé » des vins de sauvignon. Cette nuance est caractéristique des vieux rieslings. Pour autant, nous montrons que l'usage d'une capsule à vis (saranex ou saran fil étain) favorise l'accumulation du TDN à odeur de kérosène dans les vins de sauvignon conservés 12 ans en bouteille.

La compréhension de l'évolution des vins blancs en bouteille a été complétée par l'étude de la distribution dans des vieux vins blancs de deux aldéhydes récemment identifiés dans les bois de chêne : le (*E,E,Z*)2,4,6-nonatriénal et le trans-4,5-époxy-(*E*)-2-décénal. Au regard des concentrations rencontrées, seul le (*E,E,Z*)2,4,6-nonatriénal à odeur de pâte feuilletée, contribue de façon significative à l'arôme des vieux vins de sauvignon développant des nuances d'amande fraîche. Nous montrons qu'un niveau d'OTR faible favorise l'accumulation de ce composé.

Ainsi, l'ensemble de ces nouvelles connaissances obtenues sur l'évolution sur le long terme des vins de sauvignon sont basées sur l'analyse de marqueurs moléculaires en lien avec la qualité et les défauts de

ces vins. Elles confortent nos connaissances actuelles tout en apportant de la robustesse et de éléments de précision quant au rôle du type d'obturateur sur la qualité du vieillissement en bouteille.

Au regard de nos connaissances sur l'évolution des vins blancs en bouteille, force est de constater que celles relatives au vieillissement des vins rouges et notamment des grands vins rouges présentant une forte aptitude à la conservation, sont insuffisantes. A ce jour, les marqueurs moléculaires dont nous disposons ne permettent pas de rendre compte de la complexité et de la diversité des tonalités aromatiques associées au bouquet de vieillissement. Pour caractériser des composés volatils impliqués dans l'apparition d'un bouquet de vieillissement nous avons porté notre choix sur deux stratégies.

La première, la plus traditionnelle, repose sur une recherche guidée par l'olfaction. Elle implique une sélection de vins développant un bouquet sur lesquels nous allons appliquer une cascade de purification. L'objectif étant de mettre en évidence des zones odorantes par GC-O puis de procéder à leur identification par différents couplages chromatographiques telles la chromatographie en phase liquide (HPLC) et la chromatographie gazeuse bidimensionnelle couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse à temps de vol (GC-GC-O-TOF MS). C'est ainsi que nous avons identifié l'abhexone. Cette furanone chirale rappelle le curry. Nous avons développé une méthode de quantification par GC-MS/MS précédée d'une extraction du vin par SPE. Nous montrons que dans des vins de cabernet sauvignon, sa concentration augmente au cours du vieillissement sans pour autant être clairement impactée par le type d'obturateur et son OTR. Pour les millésimes les plus anciens, sa concentration dépasse son seuil de détection (Sd 0,43 µg/L). L'analyse de ses énantiomères par chromatographie chirale a révélé que l'un d'eux était retrouvé en excès dans les vins (50 % à 94 %), quels que soient leur origine et leur millésime. Ce résultat est original au regard de nos connaissances sur la distribution des autres furanones dans les vins. Sur la base de nos investigations, il semblerait que la forme *R* soit la plus abondante et la moins odorante (Sd 2,3 µg/L). Le seuil de détection de la forme *S* est de 0,22 µg/L. Bien sûr ce travail doit être étendu à d'autres vins mais il semble que ce composé ne soit pas systématiquement impliqué dans l'arôme des vins rouges mais par contre qu'il puisse contribuer à l'arôme des vins les plus âgés (> 20 ans). Pour autant, la rigueur de la stratégie que nous avons suivie souligne l'importance de caractériser finement les énantiomères d'un composé odorant avant de conclure sur sa contribution olfactive.

La seconde approche est plus originale. Elle est basée sur une observation empirique : les grands vins rouges développant un bouquet de vieillissement sont quasiment tous élevés au contact du bois de chêne durant leur jeunesse. Or les composés cédés par le bois, largement décrits dans la littérature ne peuvent pas expliquer à eux seuls la formation de ce bouquet. En revanche, il n'est pas exclu que certains d'entre eux puisse jouer le rôle de précurseur d'arôme. Par ailleurs, de récents travaux menés au laboratoire ont décrit la synthèse de thiols volatils fortement odorants à partir de la réaction entre le NaSH et des composés carbonylés ou d'alcools issus du bois de chêne. Aussi, nous avons formulé une hypothèse selon laquelle la réaction du NaSH sur une matrice complexe, telle que le bois de chêne, mais beaucoup

plus simple que le vin, puisse nous servir de matière première pour la recherche de composés odorants en lien avec le bouquet de vieillissement des vins rouges.

C'est ainsi que nous avons développé une méthode que nous avons baptisée A.R.T. (accelerated reductive treatment). Les différentes étapes jalonnant l'optimisation puis l'application de ce protocole comprennent l'extraction (choix du solvant, type de bois), les conditions de réaction avec le NaSH (température, durée, concentration), la réduction (type de réducteur, conditions d'application). Au final, l'application de ce traitement à un macérât de bois de chêne rappelant la noix de coco et la vanille permet de transformer son odeur en tonalités intenses de viande grillée et d'épices. Ces tonalités sont retrouvées parmi celles décrites dans le bouquet de vieillissement des vins rouges.

La caractérisation des zones odorantes perçues par GC-O pour lesquelles nous avons confirmé la présence de soufre par GC-PFPD a été réalisée par GC-O-TOF MS. La complexité des échantillons et probablement les faibles concentrations des composés d'impact nous ont conduits à l'utilisation de stratégies de séparation plus fines. Ainsi, nous avons caractérisé une zone odorante rappelant la viande grillée par chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle préparative couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse à temps de vol (prep-GC-O-GC-O-TOF MS). Le composé correspondant est le 2-méthoxybenzenethiol (2-MTP), équivalent soufré du gaïacol à odeur de fumée et retrouvé dans les bois de chêne chauffé. Ce composé est identifié formellement pour la première fois dans les vieux vins rouges. Quatre autres composés de type thiol ont été ainsi identifiés par analogie avec la présence de leurs précurseurs dans le bois : le 2,6-diméthylbenzenethiol (26DMBT), le 5-méthyl-2-furanméthanethiol (5MFFT), le 2,6-diméthoxybenzenethiol (thiosyringol), et le 2-méthylbenzenethiol (*o*-thiocrésol). Enfin le 2,5-diméthyl-3-furanthiol (25DMFT) de structure proche du 2-méthyl-3-furanthiol (2M3F) et du 2-furanméthanethiol (FFT) à également été identifié.

Ces composés ont été quantifiés dans 67 vins de cabernet sauvignon provenant de différents grands crus internationaux. L'analyse de la bibliographie nous a amené à étudier deux autres composés disponibles dans le commerce : le  $\alpha$ -Méthyl-benzeneméthanethiol (PET) à odeur de fumée et le 2-méthyl-[3-méthyl-dithio]furane (DTF) rappelant la viande grillée.

Dans un premier temps nous avons étudié les propriétés sensorielles de l'ensemble de ces composés. Au final, l'analyse par GC-MS/MS des extraits de vin révèle que seuls le 5-méthyl-2-furanméthanethiol (Sd 0,8 ng/L), 2-méthyl-[3-méthyl-dithio]furane (Sd 2,3 ng/L) et le PET (Sd 0,4 ng/L) contribuent directement à l'arôme des vins rouges conservés de nombreuses années en bouteille. Les autres composés présentent des teneurs proches des seuils individuels. Aussi, il n'est pas exclu qu'ils puissent contribuer à l'arôme du vin par des effets d'additivité. Au regard des voies de formation pressenties, en lien avec la présence de précurseurs issus du bois de chêne, un travail complémentaire nous permis montrer l'impact significatif de l'élevage en barrique de chêne sur les teneurs en thiols volatils du vin jeune. Enfin, bien que le vin de cabernet sauvignon que nous avons analysé après 14 ans de conservation

ne présentent pas de teneurs importantes en thiols volatils, les premiers résultats tendent à montrer que le niveau d'OTR de l'obturateur peut moduler significativement leurs teneurs.

Ces résultats constituent une véritable avancée dans la compréhension des déterminants moléculaires du bouquet de vieillissement des grands vins rouges.

Pour autant, le travail de caractérisation sensorielle de ces composés soufrés doit être poursuivi afin d'établir plus finement leur implication dans la genèse des tonalités empyreumatiques complexes du bouquet de vieillissement des grands vins rouges. Au cours de ce travail, nous avons identifié plusieurs thiols volatils dont les précurseurs sont présents dans le bois de chêne. En conséquence, d'autres composés de structures semblables et présentant des seuils de détection beaucoup plus bas pourraient aussi exister dans les vins. En outre, il serait souhaitable d'étendre l'étude de leurs distributions dans les eaux-de-vie vieilles en fûts de chêne. De même qu'il serait souhaitable d'étendre les nombreux résultats que nous avons obtenus sur le vieillissement des vins de sauvignon à d'autres cépages.

Au final, l'étude du vieillissement des vins reste aussi complexe que passionnante. L'ensemble des travaux que nous avons menés nous ont permis d'ouvrir de nouvelles voies de compréhension du vieillissement des vins en bouteille. Cependant, l'étude des conditions les plus favorables au développement du bouquet en lien avec la formation de ces composés soufrés restent encore à explorer.



## Références bibliographiques

- Abe, E., Delyle, S. G., & Alvarez, J. C. (2010). Extraction liquide-liquide: Théorie, applications, difficultés. *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2), 51–59. <https://doi.org/10.1051/ata/2010018>
- Abenojar, J., Barbosa, A. Q., Ballesteros, Y., del Real, J. C., da Silva, L. F. M., & Martínez, M. A. (2014). Effect of surface treatments on natural cork: Surface energy, adhesion, and acoustic insulation. *Wood Science and Technology*, 48(1), 207–224. <https://doi.org/10.1007/s00226-013-0599-7>
- Acree, T. E. (1997). Peer Reviewed: GC/Olfactometry GC With a Sense of Smell. *Analytical Chemistry*, 69(5), 170A-175A. <https://doi.org/10.1021/ac971560s>
- Adams, A., van Bloois, S., Otte, B., Caro, E., Mekap, D., & Sandkuehler, P. (2019). Flavor scalping by polyethylene sealants. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100371. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100371>
- Adrian, J., Potus, J., & Frangne, R. (1995). *La science alimentaire de A à Z*. Technique et documentation Lavoisier.
- Alamo-Sanza, M. del, Nevares, I., Martínez-Gil, A., Rubio-Bretón, P., & Garde-Cerdán, T. (2019). Impact of long bottle aging (10 years) on volatile composition of red wines micro-oxygenated with oak alternatives. *LWT*, 101, 395–403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.049>
- Allamy, L., Darriet, P., & Pons, A. (2018). Molecular interpretation of dried-fruit aromas in Merlot and Cabernet Sauvignon musts and young wines: Impact of over-ripening. *Food Chemistry*, 266, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.022>
- Allamy, L., Van Leeuwen, C., & Pons, A. (2023). Impact of harvest date on aroma compound composition of Merlot and Cabernet-Sauvignon must and wine in a context of climate change: A focus on cooked fruit molecular markers. *OENO One*, 57(3), 99–112. <https://doi.org/10.20870/oenone.2023.57.3.7458>
- Allen, M. S., Lacey, M. J., & Boyd, S. (1994). Determination of Methoxypyrazines in Red Wines by Stable Isotope Dilution Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(8), 1734–1738. <https://doi.org/10.1021/jf00044a030>
- Amoore, J. E., Venstrom, D., & Davis, A. R. (1968). Measurement of Specific Anosmia. *Perceptual and Motor Skills*, 26(1), 143–164. <https://doi.org/10.2466/pms.1968.26.1.143>
- An, Y., Wen, L., Li, W., Zhang, X., Hu, Y., & Xiong, S. (2022). Characterization of Warmed-Over Flavor Compounds in Surimi Gel Made from Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by Gas Chromatography–Ion Mobility Spectrometry, Aroma Extract Dilution Analysis, Aroma Recombination, and Omission Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(30), 9451–9462. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c02119>



- Andujar-Ortiz, I., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J., & Pozo-Bayón, M. A. (2009). Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of wine volatile compounds. *Journal of Chromatography A*, *1216*(43), 7351–7357. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.055>
- Anjos, O., Pereira, H., & Rosa, M. E. (2010). Tensile properties of cork in the tangential direction: Variation with quality, porosity, density and radial position in the cork plank. *Materials & Design*, *31*(4), 2085–2090. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2009.10.048>
- Anocibar Beloqui, A., Kotseridis, Y., & Bertrand, A. (1996). Determination of the content of dimethyl sulphide in some red wines. *OENO One*, *30*(3), 167. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1996.30.3.1100>
- Antalick, G., Perello, M.-C., & de Revel, G. (2010). Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, *121*(4), 1236–1245. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.011>
- Antalick, G., Perello, M.-C., & de Revel, G. (2014). Esters in Wines: New Insight through the Establishment of a Database of French Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, *65*(3), 293–304. <https://doi.org/10.5344/ajev.2014.13133>
- Aroso, I. M., Duarte, A. R. C., Pires, R. R., Mano, J. F., & Reis, R. L. (2015). Cork processing with supercritical carbon dioxide: Impregnation and sorption studies. *The Journal of Supercritical Fluids*, *104*, 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.06.024>
- ASTM D1434-82(2015)e1—Standard Test Method for Determining Gas Permeability Characteristics of Plastic Film and Sheeting. (n.d.). Retrieved August 2, 2023, from <https://webstore.ansi.org/standards/astm/astmd1434822015e1>
- ASTM-F1307 | Standard Test Method for Oxygen Transmission Rate Through Dry Packages Using a Coulometric Sensor | Document Center, Inc. (2020). <https://www.document-center.com/standards/show/ASTM-F1307>
- Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, *458*(1), 15–27. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01617-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01617-8)
- Augustyn, O. P. H., Rapp, A., & van Wyk, C. J. (1985). Some Volatile Aroma Components of *Vitis Vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *3*(2). <https://doi.org/10.21548/3-2-2382>
- Azevedo, J., Lopes, P., Mateus, N., & de Freitas, V. (2022). Cork, a Natural Choice to Wine? *Foods*, *11*(17), 2638. <https://doi.org/10.3390/foods11172638>
- Bailly, S., Jerkovic, V., Meurée, A., Timmermans, A., & Collin, S. (2009). Fate of Key Odorants in Sauternes Wines through Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(18), 8557–8563. <https://doi.org/10.1021/jf901429d>

- Ball, D. W. (2007). The Chemical Composition of Maple Syrup. *Journal of Chemical Education*, 84(10), 1647. <https://doi.org/10.1021/ed084p1647>
- Baltussen, E., Cramers, C., & Sandra, P. (2002). Sorptive sample preparation – a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373(1–2), 3–22. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1266-2>
- Basalekou, M., Tataridis, P., Georgakis, K., & Tsintonis, C. (2023). Measuring Wine Quality and Typicity. *Beverages*, 9(2), 41. <https://doi.org/10.3390/beverages9020041>
- Bekker, M. Z., Kreitman, G. Y., Jeffery, D. W., & Danilewicz, J. C. (2018). Liberation of Hydrogen Sulfide from Dicysteiny Polysulfanes in Model Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(51), 13483–13491. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04690>
- Bessis, R., Leneuf, N., & Fournioux, J.-C. (1994). Les bases de la typicité des vins: Le cépage et le terroir. *Pour la science*, 203, 48–55.
- Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Inglis, D., & Pickering, G. J. (2010). Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet Franc wine during bottle ageing. *Food Chemistry*, 119(3), 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.052>
- Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Inglis, D., Sears, M., & Pickering, G. J. (2009). Effect of Closure and Packaging Type on 3-Alkyl-2-methoxypyrazines and Other Impact Odorants of Riesling and Cabernet Franc Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4680–4690. <https://doi.org/10.1021/jf803720k>
- Blanchard, L., Tominaga, T., & Dubourdieu, D. (2001). Formation of Furfurylthiol Exhibiting a Strong Coffee Aroma during Oak Barrel Fermentation from Furfural Released by Toasted Staves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4833–4835. <https://doi.org/10.1021/jf010539w>
- Bobet, R. A., Noble, A. C., & Boulton, R. B. (1990). Kinetics of the ethanethiol and diethyl disulfide interconversion in wine-like solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(2), 449–452. <https://doi.org/10.1021/jf00092a025>
- Bonnaffoux, H., Roland, A., Schneider, R., & Cavelier, F. (2021). Spotlight on release mechanisms of volatile thiols in beverages. *Food Chemistry*, 339, 127628. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127628>
- Bouchilloux, P., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2015). Identification d'un thiol fortement odorant, le 2-méthyl-3-furanthiol, dans les vins. *VITIS - Journal of Grapevine Research*, 177 Pages. <https://doi.org/10.5073/VITIS.1998.37.177-180>
- Bouchilloux, P., Darriet, P., Henry, R., Lavigne-Cruège, V., & Dubourdieu, D. (1998). Identification of Volatile and Powerful Odorous Thiols in Bordeaux Red Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 3095–3099. <https://doi.org/10.1021/jf971027d>
- Bouchonnet, S., & Libong, D. (2004). Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualité Chimique*, 7–14.

- Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F., & Kunkee, R. E. (1999). The Bottling and Storage of Wines. In R. B. Boulton, V. L. Singleton, L. F. Bisson, & R. E. Kunkee (Eds.), *Principles and Practices of Winemaking* (pp. 427–447). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6255-6\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6255-6_11)
- Bradshaw, M. P., Barril, C., Clark, A. C., Prenzler, P. D., & Scollary, G. R. (2011). Ascorbic Acid: A Review of its Chemistry and Reactivity in Relation to a Wine Environment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(6), 479–498. <https://doi.org/10.1080/10408391003690559>
- Brajkovich, M., Tibbits, N., Peron, G., Lund, C. M., Dykes, S. I., Kilmartin, P. A., & Nicolau, L. (2005). Effect of Screwcap and Cork Closures on SO<sub>2</sub> Levels and Aromas in a Sauvignon Blanc Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(26), 10006–10011. <https://doi.org/10.1021/jf0512813>
- Brown, R. C., Sefton, M. A., Taylor, D. K., & Elsey, G. M. (2006). An odour detection threshold determination of all four possible stereoisomers of oak lactone in a white and a red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *12*(2), 115–118. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00050.x>
- Buck, L., & Axel, R. (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, *65*(1), 175–187.
- Buettner, A. (2004). Investigation of Potent Odorants and Afterodor Development in Two Chardonnay Wines Using the Buccal Odor Screening System (BOSS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(8), 2339–2346. <https://doi.org/10.1021/jf035322b>
- Burdock, G. A. (2016). *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients* (0 ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781439847503>
- Butterworth, K. R., & Mason, P. L. (1981). Acute toxicity of thioguaiacol and of versalide in rodents. *Food and Cosmetics Toxicology*, *19*, 753–755. [https://doi.org/10.1016/0015-6264\(81\)90532-0](https://doi.org/10.1016/0015-6264(81)90532-0)
- Cadot, Y., Caillé, S., Samson, A., Barbeau, G., & Cheynier, V. (2010). Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by Quantitative Descriptive Analysis, Just About Right analysis and typicality assessment. *Analytica Chimica Acta*, *660*(1–2), 53–62.
- Cadot, Y., Caillé, S., Samson, A., Barbeau, G., & Cheynier, V. (2012). Sensory representation of typicality of Cabernet franc wines related to phenolic composition: Impact of ripening stage and maceration time. *Analytica Chimica Acta*, *732*, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.02.013>
- Cadot, Y., Caillé, S., Thiollet-Scholtus, M., Samson, A., Barbeau, G., & Cheynier, V. (2012). Characterisation of typicality for wines related to terroir by conceptual and by perceptual representations. An application to red wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference*, *24*(1), 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.08.012>

- Caillé, S., Samson, A., Wirth, J., Diéval, J.-B., Vidal, S., & Cheynier, V. (2010). Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.049>
- Caloghiris, M., Waters, E. J., & Williams, P. J. (1997). An industry trial provides further evidence for the role of corks in oxidative spoilage of bottled wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3(1), 9–17. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1997.tb00110.x>
- Câmara, J. S., Alves, M. A., & Marques, J. C. (2006). Changes in volatile composition of Madeira wines during their oxidative ageing. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.031>
- Cameleyre, M., Lytra, G., Schütte, L., Vicard, J.-C., & Barbe, J.-C. (2020). Oak Wood Volatiles Impact on Red Wine Fruity Aroma Perception in Various Matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(47), 13319–13330. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00583>
- Campo, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters. *Journal of Chromatography A*, 1140(1–2), 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.036>
- Cannon, R. J., & Ho, C.-T. (2018). Volatile sulfur compounds in tropical fruits. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 445–468. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.014>
- Carrascón, V., Bueno, M., Fernandez-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2017). Oxygen and SO<sub>2</sub> Consumption Rates in White and Rosé Wines: Relationship with and Effects on Wine Chemical Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(43), 9488–9495. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02762>
- Cejudo-Bastante, M. J., Hermosín-Gutiérrez, I., & Pérez-Coello, M. S. (2013). Accelerated Aging against Conventional Storage: Effects on the Volatile Composition of Chardonnay White Wines: Storage versus accelerated aging.... *Journal of Food Science*, 78(4), C507–C513. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12077>
- Cerny, C., Schlichtherle-Cerny, H., Gibe, R., & Yuan, Y. (2021). Furfuryl alcohol is a precursor for furfurylthiol in coffee. *Food Chemistry*, 337, 128008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128008>
- Chambre d'agriculture. (2022, July 7). *Viticulture*. Chambre d'agriculture Nouvelle-Aquitaine. <https://nouvelle-aquitaine.chambres-agriculture.fr/filieres-et-territoires/productions-vegetales/viticulture/>
- Chanut, J., Bellat, J.-P., Gougeon, R. D., & Karbowiak, T. (2021). Controlled diffusion by thin layer coating: The intricate case of the glass-stopper interface. *Food Control*, 120, 107446. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107446>
- Chanut, J., Bellat, J.-P., Gougeon, R. D., & Karbowiak, T. (2023). A key to wine conservation lies in the glass/cork interface. *PNAS Nexus*, pgad344. <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgad344>

- Chanut, J., Lagorce, A., Lequin, S., Gougeon, R. D., Simon, J.-M., Bellat, J.-P., & Karbowski, T. (2021). Fast manometric method for determining the effective oxygen diffusion coefficient through wine stopper. *Polymer Testing*, 93, 106924. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106924>
- Chatonnet, P. (1995). *Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne*. Université de Bordeaux.
- Chatonnet, P., Dubourdie, D., Boidron, J., & Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(2), 165–178. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600205>
- Chatonnet, P., & Labadie, D. (2003). Caractéristiques physiques et comportement vis-à-vis de l'oxydation du vin de différents types de bouchons chevilles. *Revue Des Oenologues et Des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques: Magazine Trimestriel d'information Professionnelle*, 30(106), 13–20.
- Chen, L., Capone, D. L., & Jeffery, D. W. (2018). Identification and Quantitative Analysis of 2-Methyl-4-propyl-1,3-oxathiane in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(41), 10808–10815. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04027>
- Chen, L., & Darriet, P. (2021). Strategies for the identification and sensory evaluation of volatile constituents in wine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(5), 4549–4583. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12810>
- Chevalier, V., Pons, A., & Loisel, C. (2019). Impact de l'obturateur sur le vieillissement des vins en bouteille Partie 1/3 – Caractérisation des transferts d'oxygène de bouchons en liège. *REVUE DES OENOLOGUES*, 170. <file:///D:/Th%C3%A8se/biblio/pdf/Chevalier%20et%20al%202019.pdf>
- Cibrario, A., Avramova, M., Dimopoulou, M., Magani, M., Miot-Sertier, C., Mas, A., Portillo, M. C., Ballestra, P., Albertin, W., Masneuf-Pomarede, I., & Dols-Lafargue, M. (2019). *Brettanomyces bruxellensis* wine isolates show high geographical dispersal and long persistence in cellars. *PLOS ONE*, 14(12), e0222749. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222749>
- Coetzee, C. (2014). *Oxidation treatments affecting Sauvignon blanc wine sensory and chemical composition*. Stellenbosch: Stellenbosch University.
- Collin, S., Nizet, S., Claeys Bouuaert, T., & Despatures, P.-M. (2012). Main Odorants in Jura Flor-Sherry Wines. Relative Contributions of Sotolon, Abhexon, and Theaspirane-Derived Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1), 380–387. <https://doi.org/10.1021/jf203832c>
- Collins, T. S., Miles, J. L., Boulton, R. B., & Ebeler, S. E. (2015). Targeted volatile composition of oak wood samples taken during toasting at a commercial cooperage. *Tetrahedron*, 71(20), 2971–2982. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.02.079>

- Compendium of international methods of wine and must analysis: Volume 1* (Edition 2021). (2021). OIV.
- Courregelongue, M. (2021). *Impact des opérations de chauffe sur la diversité aromatique du bois de chêne: Recherche de marqueurs moléculaires et incidence œnologique* [These de doctorat, Bordeaux]. <https://www.theses.fr/2021BORD0387>
- Courregelongue, M., & Pons, A. (2024). Distribution and sensory impact of new oak wood-derived compounds in wines and spirits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Courregelongue, M., Shinkaruk, S., Prida, A., Darriet, P., & Pons, A. (2022). Identification and Distribution of New Impact Aldehydes in Toasted Oak Wood ( *Quercus petraea* ). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(37), 11667–11677. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c01828>
- Crouvisier Urion, K., Bellat, J.-P., Liger-Belair, G., Gougeon, R. D., & Karbowski, T. (2021). Unravelling CO<sub>2</sub> transfer through cork stoppers for Champagne and sparkling wines. *Food Packaging and Shelf Life*, 27, 100618. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100618>
- Crouvisier-Urion, K., Bellat, J.-P., Gougeon, R. D., & Karbowski, T. (2018). Gas transfer through wine closures: A critical review. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 255–269. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.021>
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An Assessment of the Role Played by Some Oxidation-Related Aldehydes in Wine Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- Culleré, L., Escudero, A., Pérez-Trujillo, J. P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). 2-Methyl-3-(methylthio)furan: A new odorant identified in different monovarietal red wines from the Canary Islands and aromatic profile of these wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 708–715. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.05.004>
- Culleré, L., Ontañón, I., Escudero, A., & Ferreira, V. (2016). Straightforward strategy for quantifying rotundone in wine at ngL<sup>-1</sup> level using solid-phase extraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Occurrence in different varieties of spicy wines. *Food Chemistry*, 206, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.039>
- Cutzach, I., Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1999). Study of the Formation Mechanisms of Some Volatile Compounds during the Aging of Sweet Fortified Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7), 2837–2846. <https://doi.org/10.1021/jf981224s>
- 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. <https://doi.org/10.1021/jf960947d>
- D. Pecore, S. (1993). Guidelines for sensory analysis in food product development and quality control. *Trends in Food Science & Technology*, 4(6), 200. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90132-T](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90132-T)

- da Silva Ferreira, A. C., Barbe, J.-C., & Bertrand, A. (2002). Heterocyclic Acetals from Glycerol and Acetaldehyde in Port Wines: Evolution with Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(9), 2560–2564. <https://doi.org/10.1021/jf011391j>
- Danilewicz, J. C. (2003). *Review of Reaction Mechanisms of Oxygen and Proposed Intermediate Reduction Products in Wine: Central Role of Iron and Copper*. 13.
- Danilewicz, J. C., Seccombe, J. T., & Whelan, J. (2008). *Mechanism of Interaction of Polyphenols, Oxygen, and Sulfur Dioxide in Model Wine and Wine*. 9.
- Darriet, P., Pons, M., Lamy, S., & Dubourdieu, D. (2000). Identification and Quantification of Geosmin, an Earthy Odorant Contaminating Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4835–4838. <https://doi.org/10.1021/jf0007683>
- Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J.-N., & Dubourdieu, D. (1995). Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal*, *10*(6), 385–392. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730100610>
- De La Burgade, R., Nolleau, V., Godet, T., Galy, N., Tixador, D., Loisel, C., Sommerer, N., & Roland, A. (2023). New Insights on the Scalping Phenomenon of Volatile Sulphur Compounds on Micro-Agglomerated Wine Closures. *Molecules*, *28*(13), 5094. <https://doi.org/10.3390/molecules28135094>
- Delahunty, C. M., Eyres, G., & Dufour, J.-P. (2006). Gas chromatography-olfactometry. *Journal of Separation Science*, *29*(14), 2107–2125. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500509>
- Dictionnaire Le Robert. (n.d.). *Définition arôme*. Retrieved October 24, 2023, from <https://dictionnaire.lerobert.com/definition/arome>
- Dieval, J.-B., Veyret, M., Vidal, J.-C., Aagaard, O., & Vidal, S. (2009). Validation of non-invasive measurement of Total Package Oxygen. *Final Papers of the 32nd World Congress of Vine and Wine*.
- Diéval, J.-B., Vidal, S., & Aagaard, O. (2011). Measurement of the Oxygen Transmission Rate of Co-extruded Wine Bottle Closures Using a Luminescence-Based Technique: OXYGEN TRANSMISSION RATE MEASUREMENT OF CO-EXTRUDED CLOSURE. *Packaging Technology and Science*, *24*(7), 375–385. <https://doi.org/10.1002/pts.945>
- Dimkou, E., Ugliano, M., Dieval, J. B., Vidal, S., Aagaard, O., Rauhut, D., & Jung, R. (2011). Impact of Headspace Oxygen and Closure on Sulfur Dioxide, Color, and Hydrogen Sulfide Levels in a Riesling Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *62*(3), 261–269. <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.11006>
- Donata, K., Janusz, Z., Adrzej, R., Tomasz, Z., Andrzej, A., & Andrzej, S. (2009). Distribution of high fatty acids in the cross section of the oak trunk (*Quercus robur* L.). *WOOD RESEARCH*, *54*.

- DP2020\_CIVB\_général\_BD.pdf. (n.d.). Retrieved September 13, 2023, from [https://www.bordeaux.com/media/wp-content/uploads/2020/03/DP2020\\_CIVB\\_g%C3%A9n%C3%A9ral\\_BD.pdf](https://www.bordeaux.com/media/wp-content/uploads/2020/03/DP2020_CIVB_g%C3%A9n%C3%A9ral_BD.pdf)
- Drappier, J., Thibon, C., Rabot, A., & Geny-Denis, L. (2019). Relationship between wine composition and temperature: Impact on Bordeaux wine typicity in the context of global warming. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(1), 14–30.
- Dubordieu, D., Pons, A., & Lavigne, V. (2012). Le vieillissement prématuré de l'arôme des vins rouges: Identification de nouveaux marqueurs. *Arômes Du Vin*.
- Ebeler, S. E., & Thorngate, J. H. (2009). Wine Chemistry and Flavor: Looking into the Crystal Glass. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8098–8108. <https://doi.org/10.1021/jf9000555>
- Echave, J., Barral, M., Fraga-Corral, M., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Bottle Aging and Storage of Wines: A Review. *Molecules*, 26(3), 713. <https://doi.org/10.3390/molecules26030713>
- Eggers, N. J., Bohna, K., & Dooley, B. (2006). Determination of Vitispirane in Wines by Stable Isotope Dilution Assay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(2), 226–232. <https://doi.org/10.5344/ajev.2006.57.2.226>
- Elias, R. J., & Waterhouse, A. L. (2010). Controlling the Fenton Reaction in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), 1699–1707. <https://doi.org/10.1021/jf903127r>
- Engel, W., Bahr, W., & Schieberle, P. (1999). Solvent assisted flavour evaporation—A new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research and Technology*, 209(3–4), 237–241. <https://doi.org/10.1007/s002170050486>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical Characterization of the Aroma of Five Premium Red Wines. Insights into the Role of Odor Families and the Concept of Fruitiness of Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2000). Clues about the Role of Methional As Character Impact Odorant of Some Oxidized Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4268–4272. <https://doi.org/10.1021/jf991177j>
- Etievant, P. X., & Bayonove, C. L. (1983). Aroma components of pomaces and wine from the variety muscat de frontignan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34(4), 393–403. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740340412>
- Falcao, L. D., Lytra, G., Darriet, P., & Barbe, J.-C. (2012). Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. *Food Chemistry*, 132(1), 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.061>
- Faurion, A. (2004). *Physiologie sensorielle à l'usage des IAA*. Éd. Tec & doc.



- Fedrizzi, B., Magno, F., Badocco, D., Nicolini, G., & Versini, G. (2007). Aging Effects and Grape Variety Dependence on the Content of Sulfur Volatiles in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10880–10887. <https://doi.org/10.1021/jf072145w>
- Fernandes, X., Filippi, J.-J., & Jeanville, M. (2011). *Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions: GC-GC et GCxGC*.
- Ferreira, V. (2012). Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: A flavour chemistry view. Part 1: intensity and detectability. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(2), 124–140. <https://doi.org/10.1002/ffj.2090>
- Ferreira, V., Escudero, A., Fernández, P., & Cacho, J. F. (1997). Changes in the profile of volatile compounds in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. *Zeitschrift Für Lebensmitteluntersuchung Und -Forschung A*, 205(5), 392–396. <https://doi.org/10.1007/s002170050187>
- Ferreira, V., Hernández-Orte, P., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (1999). Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 864(1), 77–88. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01004-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01004-3)
- Ferron, P. de, Thibon, C., Shinkaruk, S., Darriet, P., Allamy, L., & Pons, A. (2020). Aromatic Potential of Bordeaux Grape Cultivars: Identification and Assays on 4-Oxononanoic Acid, a  $\gamma$ -Nonalactone Precursor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(47), 13344–13352. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04171>
- Fischer, A., Grab, W., & Schieberle, P. (2008). Characterisation of the most odour-active compounds in a peel oil extract from Pontianak oranges (*Citrus nobilis* var. Lour. *Microcarpa* Hassk.). *European Food Research and Technology*, 227(3), 735–744. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0781-y>
- Floch, M., Shinkaruk, S., Darriet, P., & Pons, A. (2016). Identification and Organoleptic Contribution of Vanillylthiol in Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(6), 1318–1325. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05733>
- Franc, C., David, F., & de Revel, G. (2009). Multi-residue off-flavour profiling in wine using stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(15), 3318–3327. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.01.103>
- Française, A. (1838). *Dictionnaire de l'Académie française*. Adphlphe Wahlen.
- Frérot, E., Bagnoud, A., & Vuilleumier, C. (2002). Menthofurolactone: A new *p*-menthane lactone in *Mentha piperita* L.: analysis, synthesis and olfactory properties: NEW *P*-MENTHANE IN *MENTHA PIPERITA*. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(3), 218–226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1089>

- Furtado, I., Lopes, P., Oliveira, A. S., Amaro, F., Bastos, M. de L., Cabral, M., Guedes de Pinho, P., & Pinto, J. (2021). The Impact of Different Closures on the Flavor Composition of Wines during Bottle Aging. *Foods*, *10*(9), 2070. <https://doi.org/10.3390/foods10092070>
- Gaby, J. M., Bakke, A. J., Baker, A. N., Hopfer, H., & Hayes, J. E. (2020). Individual Differences in Thresholds and Consumer Preferences for Rotundone Added to Red Wine. *Nutrients*, *12*(9), 2522. <https://doi.org/10.3390/nu12092522>
- Garbusov, V., Rehfeld, G., Wölm, G., Golovnja, R. V., & Rothe, M. (1976). Volatile sulfur compounds contributing to meat flavour. Part. I. Components identified in boiled meat. *Food / Nahrung*, *20*(3), 235–241. <https://doi.org/10.1002/food.19760200302>
- García, D. D. la C., Magnaghi, S., Reichenbacher, M., & Danzer, K. (1996). Systematic optimization of the analysis of wine bouquet components by solid-phase microextraction. *Journal of High Resolution Chromatography*, *19*(5), 257–262. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240190504>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.01.008>
- Garofolo, A., & Piracci, A. (1994). Evolution des esters des acides gras pendant la conservation des vins: Constantes d'équilibre et énergies d'activation. *Evolution Des Esters Des Acides Gras Pendant La Conservation Des Vins : Constantes d'équilibre et Énergies d'activation*, *67*(757–58), 225–245.
- Geffroy, O., Buisson, C., Lempereur, V., & Chatelet, B. (2016). A sensory, chemical and consumer study of the peppery typicality of French gamay wines from cool-climate vineyards. *OENO One*, *50*(1), 35. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.50.1.53>
- Geffroy, O., Descôtes, J., Serrano, E., Li Calzi, M., Dagan, L., & Schneider, R. (2018). Can a certain concentration of rotundone be undesirable in Duras red wine? A study to estimate a consumer rejection threshold for the pepper aroma compound: Consumer rejection threshold for rotundone in Duras wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *24*(1), 88–95. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12299>
- Geffroy, O., Dufourcq, T., Carcenac, D., Siebert, T., Herderich, M., & Serrano, E. (2014). Effect of ripeness and viticultural techniques on the rotundone concentration in red wine made from *Vitis vinifera* L. cv. Duras: Practices affecting rotundone in red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *20*(3), 401–408. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12084>
- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., & Moio, L. (2007). Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry*, *103*(4), 1228–1236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.027>
- Geny, L., & Dubourdieu, D. (2015). *Les lettres du millésime*. Bordeauxraisins.Fr. <https://www.bordeauxraisins.fr/les-millesimes.html>

- Gibson, L. J., Easterling, K. E., & Ashby, M. F. (1981). The structure and mechanics of cork. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, 377(1769), 99–117.
- Gil, L. (2009). Cork Composites: A Review. *Materials*, 2(3), 776–789. <https://doi.org/10.3390/ma2030776>
- Giunchi, A., Versari, A., Parpinello, G. P., & Galassi, S. (2008). Analysis of mechanical properties of cork stoppers and synthetic closures used for wine bottling. *Journal of Food Engineering*, 88(4), 576–580. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.03.004>
- Godden, P., Francis, L., Field, J., Gishen, M., Coulter, A., Valente, P., Høj, P., & Robinson, E. (2001). Wine bottle closures: Physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine 1. Performance up to 20 months post-bottling. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7(2), 64–105. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00196.x>
- Godden, P., Lattey, K., Francis, L., Gishen, M., Cowey, G., Holdstock, M., Robinson, E., Waters, E., Skouroumounis, G., & Sefton, M. (2005a). Towards offering wine to the consumer in optimal condition—The wine, the closures and other packaging variables. *A Review of AWRI Research Examining the Changes That Occur in Wine after Bottling. Wine Ind. J*, 20, 20–30.
- Godden, P., Lattey, K., Francis, L., Gishen, M., Cowey, G., Holdstock, M., Robinson, E., Waters, E., Skouroumounis, G., & Sefton, M. (2005b). Towards offering wine to the consumer in optimal condition—The wine, the closures and other packaging variables. *A Review of AWRI Research Examining the Changes That Occur in Wine after Bottling. Wine Ind. J*, 20, 20–30.
- Godden, P., Lattey, K., Francis, L., Gishen, M., Cowey, G., Holdstock, M., Robinson, E., Waters, E., Skouroumounis, G., Sefton, M., Capone, D., Kwiatkowski, M., Field, J., Coulter, A., D’Costa, N., & Bramley, B. (2005). *Towards offering wine to the consumer in optimal condition – the wine, the closures and other packaging variables: 20(4)*.
- Gök, R., Bechtloff, P., Ziegler, M., Schmarr, H.-G., Fischer, U., & Winterhalter, P. (2019). Synthesis of Deuterium-Labeled 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) and Quantitative Determination of TDN and Isomeric Vitispiranes in Riesling Wines by a Stable-Isotope-Dilution Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(22), 6414–6422. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01428>
- Gonzalez-Adrados, J. R., Garcia-Vallejo, M. C., Caceres-Esteban, M. J., Garcia de Ceca, J. L., Gonzalez-Hernandez, F., & Calvo-Haro, R. (2012). Control by ATR-FTIR of surface treatment of cork stoppers and its effect on their mechanical performance. *Wood Science and Technology*, 46(1–3), 349–360. <https://doi.org/10.1007/s00226-011-0403-5>
- González-Adrados, J. R., González-Hernández, F., García de Ceca, J. L., Cáceres-Esteban, M. J., & García-Vallejo, M. C. (2008). Cork-wine interaction studies: Liquid absorption and non-volatile compound migration. *OENO One*, 42(3), 163. <https://doi.org/10.20870/oenone.2008.42.3.815>

- Grant-Preece, P., Fang, H., Schmidtke, L. M., & Clark, A. C. (2013). Sensorially important aldehyde production from amino acids in model wine systems: Impact of ascorbic acid, erythorbic acid, glutathione and sulphur dioxide. *Food Chemistry*, *141*(1), 304–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.100>
- Gros, J., Lavigne, V., Thibaud, F., Gammacurta, M., Moine, V., Dubourdieu, D., Darriet, P., & Marchal, A. (2017). Toward a Molecular Understanding of the Typicality of Chardonnay Wines: Identification of Powerful Aromatic Compounds Reminiscent of Hazelnut. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(5), 1058–1069. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04516>
- Grosch, W. (1993). Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science & Technology*, *4*(3), 68–73. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90187-F](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90187-F)
- Guillén, M. D., & Manzanos, M. J. (2002). Study of the volatile composition of an aqueous oak smoke preparation. *Food Chemistry*, *79*(3), 283–292. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00141-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00141-3)
- Guth, H., & Grosch, W. (1990). Comparison of stored soya-bean and rapeseed oils by aroma extract dilution analysis. *Lebensmittel-Wissenschaft+ Technologie*, *23*(1), 59–65.
- Guth, H., & Grosch, W. (1993). Identification of potent odourants in static headspace samples of green and black tea powders on the basis of aroma extract dilution analysis (AEDA). *Flavour and Fragrance Journal*, *8*(4), 173–178. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730080402>
- Han, G., Ugliano, M., Currie, B., Vidal, S., Diéval, J.-B., & Waterhouse, A. L. (2015). Influence of closure, phenolic levels and microoxygenation on Cabernet Sauvignon wine composition after 5 years' bottle storage: Influence of closure, phenolic levels and microoxygenation on wine composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(1), 36–43. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6694>
- Han, G., Webb, M. R., & Waterhouse, A. L. (2019). Acetaldehyde reactions during wine bottle storage. *Food Chemistry*, *290*, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.137>
- Harris, R. L. N., Lacey, M. J., Brown, W. V., & Allen, M. S. (1987). Determination of 2-methoxy-3-alkylpyrazines in wine by gas chromatography/mass spectrometry. *Vitis*, *26*(4), 201–207.
- Hart, A., & Kleinig, A. (2005). The role of oxygen in the aging of bottled wine. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, *20*(2), 46–50.
- He, J., Zhou, Q., Peck, J., Soles, R., & Qian, M. C. (2013). The effect of wine closures on volatile sulfur and other compounds during post-bottle ageing: Effect of wine closures on volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*, *28*(2), 118–128. <https://doi.org/10.1002/ffj.3137>
- Hill, P., & Smith, R. (2000). Determination of sulfur compounds in beer using headspace Carboxen/PDMS GC-FPD in beer SPME and GC analysis with pulsed FPD detector headspace. *J. Chromatogr. A*, *872*(1), 2.
- Horák, T., Čulík, J., Kellner, V., Jurková, M., Čejka, P., Hašková, D., & Dvořák, J. (2010). Analysis of Selected Esters in Beer: Comparison of Solid-Phase Microextraction and Stir Bar Sorptive

- Extraction. *Journal of the Institute of Brewing*, 116(1), 81–85. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00402.x>
- Ikenaga, T., Lavin, E. H., & Acree, T. E. (2017). A Savory Odorant in Sweet Potato Shochu: 2-Methyl-3-(Methyldithio)-Furan. *Chemosensory Perception*, 10(1–2), 8–12. <https://doi.org/10.1007/s12078-017-9222-x>
- INAO\_0000\_6075-Pessac Leognan-Arrêté du 22 mars 2021. (n.d.). Retrieved August 22, 2023, from [https://www.inao.gouv.fr/show\\_texte/6075](https://www.inao.gouv.fr/show_texte/6075)
- ISO 633:2019(fr), Liège—Vocabulaire. (n.d.). Retrieved August 22, 2023, from <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:633:ed-3:v1:fr>
- ISO 4120:2021(fr), Analyse sensorielle—Méthodologie—Essai triangulaire. (n.d.). Retrieved August 21, 2023, from <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:4120:ed-3:v1:fr>
- ISO 8586:2023(fr), Analyse sensorielle—Sélection et entraînement des sujets sensoriels. (n.d.). Retrieved September 15, 2023, from <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:8586:ed-2:v1:fr>
- ISO 13299:2016(fr), Analyse sensorielle—Méthodologie—Directives générales pour l'établissement d'un profil sensoriel. (n.d.). Retrieved September 15, 2023, from <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:13299:ed-2:v1:fr>
- ISO 13301:2018(fr), Analyse sensorielle—Méthodologie—Recommandations générales pour le mesurage des seuils de détection d'odeur, de flaveur et de goût par une technique à choix forcé de 1 parmi 3 (3-AFC). (n.d.). Retrieved May 27, 2022, from <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:13301:ed-2:v1:fr>
- ISO 8589:2007(fr), Analyse sensorielle—Directives générales pour la conception de locaux destinés à l'analyse. (n.d.). Retrieved August 3, 2023, from <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:8589:ed-2:v1:fr>
- ISO 9727-5:2007(fr), Bouchons cylindriques en liège—Essais physiques—Partie 5: Détermination de la force d'extraction. (n.d.). Retrieved September 15, 2023, from <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:9727:-5:ed-1:v1:fr>
- ISO/IEC 17025:2005. (2014, January 8). ISO. <https://www.iso.org/fr/standard/39883.html>
- Jeleń, H. H., Majcher, M., & Dziadas, M. (2012). Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review. *Analytica Chimica Acta*, 738, 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.006>
- Kanavouras, A., Karanika, E., Coutelieris, F. A., Kotseridis, Y., & Kallithraka, S. (2019). Preliminary study of flavor compounds as oxidation markers in bottled white wines of Greek origin. *OENO One*, 53(3). <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.3.2439>
- Karbowiak, T., Gougeon, R. D., Alinc, J.-B., Brachais, L., Debeaufort, F., Voilley, A., & Chassagne, D. (2009). Wine Oxidation and the Role of Cork. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(1), 20–52. <https://doi.org/10.1080/10408390802248585>

- Keenan, C. P., Gözükarar, M. Y., Christie, G. B. Y., & Heyes, D. N. (1999). Oxygen permeability of macrocrystalline paraffin wax and relevance to wax coatings on natural corks used as wine bottle closures. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 5(2), 66–70. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1999.tb00154.x>
- Kertsch, A.-L., Wagner, J., & Henle, T. (2023). Selected Maillard Reaction Products and Their Yeast Metabolites in Commercial Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, acs.jafc.3c04512. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04512>
- Kirchhoff, E., & Schieberle, P. (2002). Quantitation of Odor-Active Compounds in Rye Flour and Rye Sourdough Using Stable Isotope Dilution Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19), 5378–5385. <https://doi.org/10.1021/jf020236h>
- Klesk, K., Qian, M., & Martin, R. R. (2004). Aroma Extract Dilution Analysis of cv. Meeker (*Rubus idaeus* L.) Red Raspberries from Oregon and Washington. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5155–5161. <https://doi.org/10.1021/jf0498721>
- König, T., Gutsche, B., Hartl, M., Hübscher, R., Schreier, P., & Schwab, W. (1999). 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5 H )-furanone (Sotolon) Causing an Off-Flavor: Elucidation of Its Formation Pathways during Storage of Citrus Soft Drinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3288–3291. <https://doi.org/10.1021/jf981244u>
- Kosowska, M., Majcher, M. A., Jeleń, H. H., & Fortuna, T. (2018). Key Aroma Compounds in Smoked Cooked Loin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(14), 3683–3690. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05996>
- Kotseridis, Y., Razungles, A., Bertrand, A., & Baumes, R. (2000). Differentiation of the Aromas of Merlot and Cabernet Sauvignon Wines Using Sensory and Instrumental Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5383–5388. <https://doi.org/10.1021/jf000401y>
- Kreitman, G. Y., Danilewicz, J. C., Jeffery, David. W., & Elias, R. J. (2017). Copper(II)-Mediated Hydrogen Sulfide and Thiol Oxidation to Disulfides and Organic Polysulfanes and Their Reductive Cleavage in Wine: Mechanistic Elucidation and Potential Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(12), 2564–2571. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05418>
- Labadie, D., & Chatonnet, P. (2003). Contrôle de la conformité des bouchons: Objectifs et paramètres à l'usage des professionnels. *Revue Française d'oenologie*, 198, 20–29.
- Lacey, M. J., Allen, M. S., Harris, R. L. N., & Brown, W. V. (1991). Methoxy-pyrazines in Sauvignon blanc Grapes and Wines. 42(2), 103–108.
- Lacroux, F., Trégoat, O., Van Leeuwen, C., Pons, A., Tominaga, T., Lavigne-Cruège, V., & Dubourdiou, D. (2008). Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *OENO One*, 42(3), 125. <https://doi.org/10.20870/oenone.2008.42.3.816>

- Lagorce-Tachon, A., Karbowski, T., Champion, D., Gougeon, R. D., & Bellat, J.-P. (2016). How does hydration affect the mechanical properties of wine stoppers? *Journal of Materials Science*, *51*(9), 4227–4237. <https://doi.org/10.1007/s10853-015-9669-6>
- Lagorce-Tachon, A., Karbowski, T., Paulin, C., Simon, J.-M., Gougeon, R. D., & Bellat, J.-P. (2016). About the Role of the Bottleneck/Cork Interface on Oxygen Transfer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(35), 6672–6675. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02465>
- Lagorce-Tachon, A., Karbowski, T., Simon, J.-M., Gougeon, R., & Bellat, J.-P. (2014). Diffusion of Oxygen through Cork Stopper: Is It a Knudsen or a Fickian Mechanism? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(37), 9180–9185. <https://doi.org/10.1021/jf501918n>
- Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. (2000). *Yeast and its importance to wine aroma*.
- Lavigne, V., Pons, A., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2008). Changes in the Sotolon Content of Dry White Wines during Barrel and Bottle Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(8), 2688–2693. <https://doi.org/10.1021/jf072336z>
- Lavigne-Cruège, V., & Dubourdieu, D. (2002). Role of glutathione on development of aroma defects in dry white wines. *13th International Enology Symposium*, 331–347.
- Lee, K.-Y. M., Paterson, A., Piggott, J. R., & Richardson, G. D. (2001). Origins of Flavour in Whiskies and a Revised Flavour Wheel: A Review. *Journal of the Institute of Brewing*, *107*(5), 287–313. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2001.tb00099.x>
- Leppanen, O. A., Denslow, J., & Ronkainen, P. P. (1980). Determination of thiolacetates and some other volatile sulfur compounds in alcoholic beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *28*(2), 359–362. <https://doi.org/10.1021/jf60228a028>
- Lequin, S., Chassagne, D., Karbowski, T., Simon, J.-M., Paulin, C., & Bellat, J.-P. (2012). Diffusion of Oxygen in Cork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(13), 3348–3356. <https://doi.org/10.1021/jf204655c>
- Leybros, J., & Cote, G. (2004). *Extraction liquide-liquide*. Ed. Techniques Ingénieur.
- Li, Z., Yu, B., Cong, H., Yuan, H., & Peng, Q. (2017). Recent development and application of solid phase extraction materials. *Rev. Adv. Mater. Sci*, *48*, 87–111.
- Licciardello, F., Del Nobile, M. A., Spagna, G., & Muratore, G. (2009). Scalping of ethyloctanoate and linalool from a model wine into plastic films. *LWT - Food Science and Technology*, *42*(6), 1065–1069. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.007>
- Liu, N., Song, Y.-Y., Dang, G.-F., Ye, D.-Q., Gong, X., & Liu, Y.-L. (2015). Effect of wine closures on the aroma properties of Chardonnay wines after four years of storage. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *36*(3), 296–303.
- Liu, S.-Q. (2002). Malolactic fermentation in wine—Beyond deacidification. *Journal of Applied Microbiology*, *92*(4), 589–601. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01589.x>

- Lockwood, G. B. (2001). Techniques for gas chromatography of volatile terpenoids from a range of matrices. *Journal of Chromatography A*, 936(1–2), 23–31. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01151-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01151-7)
- Lopes, P., Saucier, C., & Glories, Y. (2005). Nondestructive Colorimetric Method To Determine the Oxygen Diffusion Rate through Closures Used in Winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 6967–6973. <https://doi.org/10.1021/jf0404849>
- Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P.-L., & Glories, Y. (2006). Impact of Storage Position on Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6741–6746. <https://doi.org/10.1021/jf0614239>
- Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P.-L., & Glories, Y. (2007). Main Routes of Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5167–5170. <https://doi.org/10.1021/jf0706023>
- Lopes, P., Silva, M. A., Pons, A., Tominaga, T., Lavigne, V., Saucier, C., Darriet, P., Teissedre, P.-L., & Dubourdieu, D. (2009). Impact of Oxygen Dissolved at Bottling and Transmitted through Closures on the Composition and Sensory Properties of a Sauvignon Blanc Wine during Bottle Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10261–10270. <https://doi.org/10.1021/jf9023257>
- Lorenzo, C., Zalacain, A., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2006). Non-destructive method to determine halophenols and haloanisoles in cork stoppers by headspace sorptive extraction. *Journal of Chromatography A*, 1114(2), 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.037>
- Lorrain, B., Tempere, S., Iturmendi, N., Moine, V., de Revel, G., & Teissedre, P.-L. (2013). Influence of phenolic compounds on the sensorial perception and volatility of red wine esters in model solution: An insight at the molecular level. *Food Chemistry*, 140(1–2), 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.048>
- Loscos, N., Ségurel, M., Dagan, L., Sommerer, N., Marlin, T., & Baumes, R. (2008). Identification of S-methylmethionine in Petit Manseng grapes as dimethyl sulphide precursor in wine. *Analytica Chimica Acta*, 621(1), 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.033>
- Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J.-C. (2013). Study of Sensory Interactions among Red Wine Fruity Esters in a Model Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8504–8513. <https://doi.org/10.1021/jf4018405>
- Lytra, G., Tempere, S., Revel, G. de, & Barbe, J.-C. (2012). Impact of Perceptive Interactions on Red Wine Fruity Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12260–12269. <https://doi.org/10.1021/jf302918q>
- Maggi, L., Zalacain, A., Mazzoleni, V., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2008). Comparison of stir bar sorptive extraction and solid-phase microextraction to determine halophenols and haloanisoles by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. *Talanta*, 75(3), 753–759. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.12.013>



- Mahmoud, S. S., & Croteau, R. B. (2003). Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by controlling a downstream monoterpene reductase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(24), 14481–14486. <https://doi.org/10.1073/pnas.2436325100>
- Maltman, A. (2008). The Role of Vineyard Geology in Wine Typicity. *Journal of Wine Research*, *19*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1080/09571260802163998>
- Manley, C. H., Wittack, M., & Fagerson, I. S. (1980). Occurrence of 3-hydroxy-4-methyl-5-ethyl-2(5h)-furanone in acid hydrolyzed soy protein. *Journal of Food Science*, *45*(4), 1096–1096. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07532.x>
- Marais, J., van Wyk, C. J., & Rapp, A. (2017). Effect of Storage Time, Temperature and Region on the Levels of 1, 1 ,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene and other Volatiles, and on Quality of Weisser Riesling Wines. *South African Journal of Enology & Viticulture*, *13*(1). <https://doi.org/10.21548/13-1-2197>
- Marchand, S., de Revel, G., & Bertrand, A. (2000). Approaches to Wine Aroma: Release of Aroma Compounds from Reactions between Cysteine and Carbonyl Compounds in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4890–4895. <https://doi.org/10.1021/jf000149u>
- Martin, Bruno., Etievant, P. X., Le Quere, J. Luc., & Schlich, Pascal. (1992). More clues about sensory impact of sotolon in some flor sherry wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*(3), 475–478. <https://doi.org/10.1021/jf00015a023>
- Mateo, J. J., & Jiménez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A*, *881*(1–2), 557–567. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01342-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01342-4)
- Mayr, C. M., Capone, D. L., Pardon, K. H., Black, C. A., Pomeroy, D., & Francis, I. L. (2015). Quantitative Analysis by GC-MS/MS of 18 Aroma Compounds Related to Oxidative Off-Flavor in Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(13), 3394–3401. <https://doi.org/10.1021/jf505803u>
- McLafferty, F. W., & Turecek, F. (1993). *Interpretation of mass spectra*. University science books.
- Mendes-Pinto, M. M. (2009). Carotenoid breakdown products the—Norisoprenoids—In wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *483*(2), 236–245. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.01.008>
- Mestres, M., Busto, O., & Guasch, J. (2000). Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. *Journal of Chromatography A*, *881*(1–2), 569–581. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00220-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00220-X)
- Millet, V. (2001). *Dynamique et survie des populations bactériennes dans les vins rouges au cours de l'élevage: Interactions et équilibres*. Bordeaux 2.
- Moio, L., Ugliano, M., Genovese, A., Gambuti, A., Pessina, R., & Piombino, P. (2004). Effect of Antioxidant Protection of Must on Volatile Compounds and Aroma Shelf Life of Falanghina (*Vitis vinifera* L.) Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(4), 891–897. <https://doi.org/10.1021/jf034869n>

- Monforte, A. R., Oliveira, C., Martins, S. I. F. S., & Silva Ferreira, A. C. (2019). Response surface methodology: A tool to minimize aldehydes formation and oxygen consumption in wine model system. *Food Chemistry*, 283, 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.063>
- Moreira, N., Lopes, P., Cabral, M., & Guedes de Pinho, P. (2016). HS-SPME/GC-MS methodologies for the analysis of volatile compounds in cork material. *European Food Research and Technology*, 242(4), 457–466. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2636-x>
- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: A review. *Food Chemistry*, 62(4), 415–424. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00076-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00076-4)
- Murat, M.-L., Masneuf, I., Darriet, P., Lavigne, V., Tominaga, T., & Dubourdieu, D. (2001). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains on the Liberation of Volatile Thiols in Sauvignon blanc Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2), 136–139. <https://doi.org/10.5344/ajev.2001.52.2.136>
- Nagarajan, G., & Annadurai, G. (1999). Biodegradation of reactive dye (Verofix Red) by the white-rot fungus. *Bioprocess Engineering*, 20(5), 435. <https://doi.org/10.1007/s004490050612>
- Nielsen, T., & Jägerstad, M. (1994). Flavour scalping by food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 5(11), 353–356. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(94\)90212-7](https://doi.org/10.1016/0924-2244(94)90212-7)
- Nikolantonaki, M., Chichuc, I., Teissedre, P.-L., & Darriet, P. (2010). Reactivity of volatile thiols with polyphenols in a wine-model medium: Impact of oxygen, iron, and sulfur dioxide. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.016>
- Nikolantonaki, M., & Darriet, P. (2011). Identification of Ethyl 2-Sulfanylacetate as an Important Off-Odor Compound in White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 10191–10199. <https://doi.org/10.1021/jf201047u>
- Nikolantonaki, M., Magiatis, P., & Waterhouse, A. L. (2014). Measuring protection of aromatic wine thiols from oxidation by competitive reactions vs wine preservatives with ortho-quinones. *Food Chemistry*, 163, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.079>
- Nikolantonaki, M., & Waterhouse, A. L. (2012). A Method To Quantify Quinone Reaction Rates with Wine Relevant Nucleophiles: A Key to the Understanding of Oxidative Loss of Varietal Thiols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(34), 8484–8491. <https://doi.org/10.1021/jf302017j>
- Niu, Y., Deng, J., Xiao, Z., & Zhu, J. (2021). Characterization of the major aroma-active compounds in peach (*Prunus persica* L. Batsch) by gas chromatography–olfactometry, flame photometric detection and molecular sensory science approaches. *Food Research International*, 147, 110457. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110457>
- Niu, Y., Yao, Z., Xiao, Q., Xiao, Z., Ma, N., & Zhu, J. (2017). Characterization of the key aroma compounds in different light aroma type Chinese liquors by GC-olfactometry, GC-FPD, quantitative measurements, and aroma recombination. *Food Chemistry*, 233, 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.103>

- Nonier, M.-F., De Gaulejac, N. V., Vivas, N., & Vitry, C. (2004). Characterization of carotenoids and their degradation products in oak wood. Incidence on the flavour of wood. *Comptes Rendus Chimie*, 7(6–7), 689–698. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2004.03.010>
- Oliveira, A. S., Furtado, I., Bastos, M. de L., Guedes de Pinho, P., & Pinto, J. (2020). The influence of different closures on volatile composition of a white wine. *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100465. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100465>
- Oliveira, C. M., Ferreira, A. C. S., De Freitas, V., & Silva, A. M. S. (2011). Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, 44(5), 1115–1126. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.050>
- Ortega-Heras, M., González-SanJosé, M. L., & Beltrán, S. (2002). Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 85–93. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01526-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01526-4)
- Parker, J. K., Mottram, D. S., & Adams, R. L. (2003). Interaction of sulphur-containing aroma compounds with proteins in both model systems and real food systems. *Flavour Research at the Dawn of the Twenty-First Century - Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium, Beaune, France, 25-28 June, 2002*, 45–50.
- Parr, W. V., Valentin, D., Green, J. A., & Dacremont, C. (2010). Evaluation of French and New Zealand Sauvignon wines by experienced French wine assessors. *Food Quality and Preference*, 21(1), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.08.002>
- Pawliszyn, J. (1997). *Solid phase microextraction: Theory and practice*. John Wiley & Sons.
- Peck, J., Cunningham, J., & Edmond, R. (2006). Effect of Bottle Bore on Oxygen Transmission Rates through Natural Cork. *Am. J. Enol. Vitic*, 57(3), 382A.
- Pedersen, D. S., Capone, D. L., Skouroumounis, G. K., Pollnitz, A. P., & Sefton, M. A. (2003). Quantitative analysis of geraniol, nerol, linalool, and  $\alpha$ -terpineol in wine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375(4), 517–522. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1716-x>
- Peng, Z., Duncan, B., Pocock, K. F., & Sefton, M. A. (1999). The influence of ascorbic acid on oxidation of white wines. *Australia Grapegrower & Winemaker*, 426a, 67–73.
- Pérez-Prieto, L. J., López-Roca, J. M., Martínez-Cutillas, A., Pardo-Mínguez, F., & Gómez-Plaza, E. (2003). Extraction and Formation Dynamic of Oak-Related Volatile Compounds from Different Volume Barrels to Wine and Their Behavior during Bottle Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5444–5449. <https://doi.org/10.1021/jf0345292>
- Peterson, A., Cholet, C., Geny, L., Darriet, P., Landais, Y., & Pons, A. (2020). Identification and analysis of new  $\alpha$ - and  $\beta$ -hydroxy ketones related to the formation of 3-methyl-2,4-nonanedione in musts and red wines. *Food Chemistry*, 305, 125486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125486>
- Petit, E., Jacquet, R., Pouységu, L., Deffieux, D., & Quideau, S. (2015). About the impact of oak ellagitannins on wine odoriferous thiols under acidic and oxidation conditions. *Tetrahedron*, 71(20), 2991–2998. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.02.036>

- Peynaud, É. (1974). *Connaissance et travail du vin* (Nouv. tirage). Dunod.
- Peynaud, É. (1980). *Le goût du vin*. Dunod.
- Picard, M., de Revel, G., & Marchand, S. (2017). First identification of three p-menthane lactones and their potential precursor, menthofuran, in red wines. *Food Chemistry*, *217*, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.070>
- Picard, M., Lytra, G., Tempere, S., Barbe, J.-C., de Revel, G., & Marchand, S. (2016). Identification of Piperitone as an Aroma Compound Contributing to the Positive Mint Nuances Perceived in Aged Red Bordeaux Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(2), 451–460. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04869>
- Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., & Marchand, S. (2015). A sensory study of the ageing bouquet of red Bordeaux wines: A three-step approach for exploring a complex olfactory concept. *Food Quality and Preference*, *42*, 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.01.014>
- Picard, M., Thibon, C., Redon, P., Darriet, P., de Revel, G., & Marchand, S. (2015). Involvement of Dimethyl Sulfide and Several Polyfunctional Thiols in the Aromatic Expression of the Aging Bouquet of Red Bordeaux Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(40), 8879–8889. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03977>
- Pineau, B., Barbe, J.-C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of Perceptive Interactions Involved in Specific “Red-” and “Black-berry” Aromas in Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(9), 3702–3708. <https://doi.org/10.1021/jf803325v>
- Polášková, P., Herszage, J., & Ebeler, S. E. (2008). Wine flavor: Chemistry in a glass. *Chemical Society Reviews*, *37*(11), 2478. <https://doi.org/10.1039/b714455p>
- Pollien, P., Ott, A., Montigon, F., Baumgartner, M., Muñoz-Box, R., & Chaintreau, A. (1997). Hyphenated Headspace-Gas Chromatography-Sniffing Technique: Screening of Impact Odorants and Quantitative Aromagram Comparisons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(7), 2630–2637. <https://doi.org/10.1021/jf960885r>
- Pons, A. (2006). *Recherches sur l'arôme de vieillissement prématuré des vins*. Bordeaux 2.
- Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2011). Determination of 3-methyl-2,4-nonanedione in red wines using methanol chemical ionization ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, S0021967311011824. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.08.017>
- Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2013). Role of 3-Methyl-2,4-nonanedione in the Flavor of Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(30), 7373–7380. <https://doi.org/10.1021/jf400348h>
- Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2015). Glutathione Preservation during Winemaking with *Vitis Vinifera* White Varieties: Example of Sauvignon blanc Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, *66*(2), 187–194. <https://doi.org/10.5344/ajev.2014.14053>

- Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2016). Identification and analysis of piperitone in red wines. *Food Chemistry*, 206, 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.064>
- Pons, A., Lavigne, V., Eric, F., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2008). Identification of Volatile Compounds Responsible for Prune Aroma in Prematurely Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5285–5290. <https://doi.org/10.1021/jf073513z>
- Pons, A., Lavigne, V., Landais, Y., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2008). Distribution and Organoleptic Impact of Sotolon Enantiomers in Dry White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(5), 1606–1610. <https://doi.org/10.1021/jf072337r>
- Pons, A., Lavigne, V., Landais, Y., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2010). Identification of a Sotolon Pathway in Dry White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7273–7279. <https://doi.org/10.1021/jf100150q>
- Pons, A., Lavigne, V., Suhas, E., Thibon, C., Redon, P., Loisel, C., & Darriet, P. (2022). Impact of the Closure Oxygen Transfer Rate on Volatile Compound Composition and Oxidation Aroma Intensity of Merlot and Cabernet Sauvignon Blend: A 10 Year Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(51), 16358–16368. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c07475>
- Pons, A., Lavigne, V., Thibon, C., Redon, P., Loisel, C., Dubourdieu, D., & Darriet, P. (2021). Impact of Closure OTR on the Volatile Compound Composition and Oxidation Aroma Intensity of Sauvignon Blanc Wines during and after 10 Years of Bottle Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(34), 9883–9894. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02635>
- Pons, A., Mouakka, N., Deliere, L., Crachereau, J. C., Davidou, L., Sauris, P., Guilbault, P., & Darriet, P. (2018). Impact of *Plasmopara viticola* infection of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes on wine composition and flavor. *Food Chemistry*, 239, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.087>
- Pons, A., Nikolantonaki, M., Lavigne, V., Shinoda, K., Dubourdieu, D., & Darriet, P. (2015). New Insights into Intrinsic and Extrinsic Factors Triggering Premature Aging in White Wines. In S. B. Ebeler, G. Sacks, S. Vidal, & P. Winterhalter (Eds.), *ACS Symposium Series* (Vol. 1203, pp. 229–251). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2015-1203.ch015>
- Presas-Owens, C. D. L., & Noble, A. C. (1997). Effect of Storage at Elevated Temperatures on Aroma of Chardonnay Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), 310–316. <https://doi.org/10.5344/ajev.1997.48.3.310>
- Prida, A., & Chatonnet, P. (2010). *Impact of Oak-Derived Compounds on the Olfactory Perception of Barrel-Aged Wines*. 6.
- Prieto, N., Gay, M., Vidal, S., Aagaard, O., de Saja, J. A., & Rodriguez-Mendez, M. L. (2011). Analysis of the influence of the type of closure in the organoleptic characteristics of a red wine by using an electronic panel. *Food Chemistry*, 129(2), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.071>

- Rachamadugu, S. K. (2012). *Characterization of specific volatiles of pig blood with the potential as predator chemoattractants and as prey warning signals*. Master Thesis, Linköping University: Linköping, Sweden, 2012. Google Scholar ....
- Ramey, D. D., & Ough, C. S. (1980). Volatile ester hydrolysis or formation during storage of model solutions and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(5), 928–934. <https://doi.org/10.1021/jf60231a021>
- Raposo, R., Ruiz-Moreno, M. J., Garde-Cerdán, T., Puertas, B., Moreno-Rojas, J. M., Gonzalo-Diago, A., Guerrero, R. F., Ortiz, V., & Cantos-Villar, E. (2016). Effect of hydroxytyrosol on quality of sulfur dioxide-free red wine. *Food Chemistry*, 192, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.085>
- Rapp, A. (1988). Wine Aroma Substances from Gas Chromatographic Analysis. In H.-F. Linskens & J. F. Jackson (Eds.), *Wine Analysis* (Vol. 6, pp. 29–66). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-83340-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-83340-3_3)
- Rapp, A., Versini, G., & Ullemeyer, H. (1993). 2-Aminoacetophenone-causal component of untypical aging flavor (Naphthalene Note, Hybrid Note) of wine. In *Vitis* (Vol. 32, Issue 1, pp. 61–62). BUNDESFORSCHUNGSANSTALT REBENZUECHTUNG GEILWEILERHOF D-76833 SIEBELDINGEN ....
- Raza, A., Song, H., Raza, J., Li, P., Li, K., & Yao, J. (2020). Formation of beef-like odorants from glutathione-enriched yeast extract *via* Maillard reaction. *Food & Function*, 11(10), 8583–8601. <https://doi.org/10.1039/D0FO01946A>
- Renold, W., Näf-Müller, R., Keller, U., Willhalm, B., & Ohloff, G. (1974). An Investigation of the Tea Aroma. Part I. New volatile black tea constituents. *Helvetica Chimica Acta*, 57(5), 1301–1308. <https://doi.org/10.1002/hlca.19740570506>
- Reveillon, A. (2014). *Les secrets de l'assemblage des vins*. Toutlevin.com. <https://www.toutlevin.com/article/les-secrets-de-l-assemblage-des-vins>
- Revel, G. de, Pripis-Nicolau, L., Barbe, J.-C., & Bertrand, A. (2000). The detection of alpha-dicarbonyl compounds in wine by formation of quinoxaline derivatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(1), 102–108. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000101\)80:1<102::AID-JSFA493>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000101)80:1<102::AID-JSFA493>3.0.CO;2-Y)
- Ribéreau-Gayon, J. (1933). *Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins. Application à l'étude du vieillissement et des casses. 2e édition, revue et augmentée*. Delmas.
- Ribereau-Gayon, P., Boidron, J. N., & Terrier, A. (1975). Aroma of Muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), 1042–1047. <https://doi.org/10.1021/jf60202a050>
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Glories, Y., & Darriet, P. (2017). *Chimie du vin, stabilisations et traitements* (7e éd). Dunod “La Vigne.”
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2021). *Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. John Wiley & Sons.

- Ribéreau-Gayon, Pascal. (2017). *Microbiologie du vin, vinifications* (7e éd). Dunod “La Vigne.”
- Rigou, P., Triay, A., & Razungles, A. (2014). Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine. *Food Chemistry*, *142*, 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.024>
- Ripper, M. (1892). Die schweflige Säure im Weine und deren Bestimmung. (Mitteilungen aus Schmitt's Laboratorium, [Untersuchungs-Amt, chemische Versuchsstation und hygienisches Institut] zu Wiesbaden.). *Journal Für Praktische Chemie*, *46*(1), 428–473.
- Ristic, R., van der Hulst, L., Capone, D. L., & Wilkinson, K. L. (2017). Impact of Bottle Aging on Smoke-Tainted Wines from Different Grape Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(20), 4146–4152. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01233>
- Rizzo, P. V., Del Toro-Gipson, R. S., Cadwallader, D. C., & Drake, M. A. (2022). Identification of aroma-active compounds in Cheddar cheese imparted by wood smoke. *Journal of Dairy Science*, *105*(7), 5622–5640. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21697>
- Robertson, G. L. (2009). *Food packaging and shelf life: A practical guide*. CRC Press.
- Robinson, A. L., Ebeler, S. E., Heymann, H., Boss, P. K., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2009). Interactions between Wine Volatile Compounds and Grape and Wine Matrix Components Influence Aroma Compound Headspace Partitioning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(21), 10313–10322. <https://doi.org/10.1021/jf902586n>
- Rollero, S., trixador, D., & Nuez, R. (2020). Etude du vieillissement de trois vins blancs en fonction de la perméabilité à l'oxygène de l'obturateur. Le cas du viognier et du chardonnay (2020). *REVUE DES OENOLOGUES*, *176*, 52–55.
- Rosa, M. E., & Fortes, M. A. (1988). Thermogravimetric analysis of cork. *Journal of Materials Science Letters*, *7*(10), 1064–1065.
- Roujou de Boubée, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic Impact of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine on Red Bordeaux and Loire Wines. Effect of Environmental Conditions on Concentrations in Grapes during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- Rowe, D. (2004). Fun with Furans. *Chemistry & Biodiversity*, *1*(12), 2034–2041. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200490156>
- Ruther, J., & Baltés, W. (1994). Sulfur-Containing Furans in Commercial Meat Flavorings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *42*(10), 2254–2259. <https://doi.org/10.1021/jf00046a032>
- Sacks, G. L., Howe, P. A., Standing, M., & Danilewicz, J. C. (2020). Free, Bound, and Total Sulfur Dioxide (SO<sub>2</sub>) during Oxidation of Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, *71*(4), 266–277. <https://doi.org/10.5344/ajev.2020.19083>
- Sáenz-Navajas, M.-P., Fernández-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Contribution of Nonvolatile Composition to Wine Flavor. *Food Reviews International*, *28*(4), 389–411. <https://doi.org/10.1080/87559129.2012.660717>

- Sajilata, M. G., Savitha, K., Singhal, R. S., & Kanetkar, V. R. (2007). Scalping of Flavors in Packaged Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(1), 17–35. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00014.x>
- San-Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). 3-Methyl-2-butene-1-thiol: Identification, analysis, occurrence and sensory role of an uncommon thiol in wine. *Talanta*, 99, 225–231. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.05.043>
- San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., & Escudero, A. (2011). Quality and Aromatic Sensory Descriptors (Mainly Fresh and Dry Fruit Character) of Spanish Red Wines can be Predicted from their Aroma-Active Chemical Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7916–7924. <https://doi.org/10.1021/jf1048657>
- Sarrafchi, A., & Laska, M. (2017). Olfactory Sensitivity for the Mammalian Blood Odor Component *Trans* -4,5-epoxy-(E)-2-decenal in CD-1 Mice. *Perception*, 46(3–4), 333–342. <https://doi.org/10.1177/0301006616653136>
- Sarrazin, E., Dubourdieu, D., & Darriet, P. (2007). Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, 103(2), 536–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.026>
- Sarrazin, E., Tominaga, T., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2009). De nouvelles connaissances sur l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble. Définition d'un espace sensoriel des vins liquoreux bordelais, caractérisation de composés clés et étude de leur genèse. *Revue Des Oenologues et Des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques: Magazine Trimestriel d'information Professionnelle*, 36(130), 15–18.
- Saucier, C., Guerra, C., Pianet, I., Laguerre, M., & Glories, Y. (1997). (+)-Catechin—Acetaldehyde condensation products in relation to wine-ageing. *Phytochemistry*, 46(2), 229–234. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00268-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00268-9)
- Schieberle, P. (1993). Studies on the flavour of roasted white sesame seeds. In *Progress in flavour precursor studies* (p. 343r360). Allured Publishers: Wheaton, IL.
- Schieberle, P. (1996). Odour-active compounds in moderately roasted sesame. *Food Chemistry*, 55(2), 145–152.
- Schieberle, P., & Grosch, W. (1987). Quantitative analysis of aroma compounds in wheat and rye bread crusts using a stable isotope dilution assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(2), 252–257. <https://doi.org/10.1021/jf00074a021>
- Schlumpberger, P., Stübner, C. A., & Steinhaus, M. (2022). Development and evaluation of an automated solvent-assisted flavour evaporation (aSAFE). *European Food Research and Technology*, 248(10), 2591–2602. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04072-1>
- Schmidt, G., Full, G., Winterhalter, P., & Schreier, P. (1992). Synthesis and enantiodifferentiation of isomeric theaspiranes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(7), 1188–1191.



- Schneider, R., Baumes, R., Bayonove, C., & Razungles, A. (1998). Volatile compounds involved in the aroma of sweet fortified wines (Vins Doux Naturels) from Grenache Noir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(8), 3230–3237.
- Schneider, V. (2016). Chemical and sensory discrimination of different kinds of white wine aging and enological measures to improve white wine flavor stability: A review. *Nova Science Publishers, Recent advances in wine Stabilization and conservation*, 162–207.
- Schnermann, P., & Schieberle, P. (1997). Evaluation of Key Odorants in Milk Chocolate and Cocoa Mass by Aroma Extract Dilution Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(3), 867–872. <https://doi.org/10.1021/jf960670h>
- Schoenauer, S., & Schieberle, P. (2019). Screening for Novel Mercaptans in 26 Fruits and 20 Wines Using a Thiol-Selective Isolation Procedure in Combination with Three Detection Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(16), 4553–4559. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01242>
- Schreier, P., Drawert, F., & Junker, A. (1976). Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *24*(2), 331–336.
- Schuh, C., & Schieberle, P. (2005). Characterization of ( E , E , Z )-2,4,6-Nonatrienal as a Character Impact Aroma Compound of Oat Flakes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(22), 8699–8705. <https://doi.org/10.1021/jf051601i>
- Schulte-Elte, K. H., Gautschi, F., Renold, W., Hauser, A., Fankhauser, P., Limacher, J., & Ohloff, G. (1978). Vitispiranes, Important Constitutents of Vanilla Aroma. *Helvetica Chimica Acta*, *61*(3), 1125–1133. <https://doi.org/10.1002/hlca.19780610326>
- Schüttler, A., Friedel, M., Jung, R., Rauhut, D., & Darriet, P. (2015). Characterizing aromatic typicality of Riesling wines: Merging volatile compositional and sensory aspects. *Food Research International*, *69*, 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.010>
- Scrimgeour, N., Nordestgaard, S., Lloyd, N. D. R., & Wilkes, E. N. (2015). Exploring the effect of elevated storage temperature on wine composition: Elevated storage temperature and wine composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *21*, 713–722. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12196>
- Sefton, M. A., Francis, I. L., & Williams, P. J. (1993). The Volatile Composition of Chardonnay Juices: A Study by Flavor Precursor Analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*, *44*(4), 359–370. <https://doi.org/10.5344/ajev.1993.44.4.359>
- Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., Salles, M., & Baumes, R. L. (2004). Contribution of Dimethyl Sulfide to the Aroma of Syrah and Grenache Noir Wines and Estimation of Its Potential in Grapes of These Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(23), 7084–7093. <https://doi.org/10.1021/jf049160a>

- Selli, S., Cabaroglu, T., Canbas, A., Erten, H., Nurgel, C., Lepoutre, J. P., & Gunata, Z. (2004). Volatile composition of red wine from cv. Kalecik Karası grown in central Anatolia. *Food Chemistry*, 85(2), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.008>
- Semmelroch, P., Laskawy, G., Blank, I., & Grosch, W. (1995). Determination of potent odourants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(1), 1–7. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730100102>
- Shao, C., Liu, P., & Xing, H. (2011). *Chicken-like oily essence* (Patent CN102283369 A).
- Siebert, T. E., Bramley, B., & Solomon, M. R. (2009). Hydrogen sulfide: Aroma detection threshold study in red and white wine. *AWRI Tech Rev*, 183, 14–16.
- Siebert, T. E., Wood, C., Elsey, G. M., & Pollnitz, A. P. (2008). Determination of Rotundone, the Pepper Aroma Impact Compound, in Grapes and Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3745–3748. <https://doi.org/10.1021/jf800184t>
- Silva, A., Lambri, M., & De Faveri, M. D. (2003). Evaluation of the performances of synthetic and cork stoppers up to 24 months post-bottling. *European Food Research and Technology*, 216(6), 529–534. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0687-2>
- Silva Ferreira, A. C., Guedes de Pinho, P., Rodrigues, P., & Hogg, T. (2002). Kinetics of Oxidative Degradation of White Wines and How They Are Affected by Selected Technological Parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5919–5924. <https://doi.org/10.1021/jf0115847>
- Silva Ferreira, A. C., Hogg, T., & Guedes de Pinho, P. (2003). Identification of Key Odorants Related to the Typical Aroma of Oxidation-Spoiled White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1377–1381. <https://doi.org/10.1021/jf025847o>
- Silva, M. A., Jourdes, M., Darriet, P., & Teissedre, P.-L. (2012). Scalping of Light Volatile Sulfur Compounds by Wine Closures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(44), 10952–10956. <https://doi.org/10.1021/jf303120s>
- Silva, M. A., Julien, M., Jourdes, M., & Teissedre, P.-L. (2011). Impact of closures on wine post-bottling development: A review. *European Food Research and Technology*, 233(6), 905–914. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1603-9>
- Silva, S. P., Sabino, M. A., Fernandes, E. M., Correlo, V. M., Boesel, L. F., & Reis, R. L. (2005). Cork: Properties, capabilities and applications. *International Materials Reviews*, 50(6), 345–365. <https://doi.org/10.1179/174328005X41168>
- Simon, M., Vuylsteke, G., & Collin, S. (2023). Flavor Defects of Fresh and Aged NABLAs: New Challenges Against Oxidation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 81(4), 533–543. <https://doi.org/10.1080/03610470.2022.2142756>
- Simpson, R. F. (1983). *Aroma composition of aged Riesling wine*.

- Simpson, R. F., & Sefton, M. A. (2007). Origin and fate of 2,4,6-trichloroanisole in cork bark and wine corks. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *13*(2), 106–116. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2007.tb00241.x>
- Simpson, R. F., Strauss, C. R., & Williams, P. J. (1977). Vitispirane: A C13 spiro ether in the aroma volatiles of grape juice, wines and distilled grape spirits. *Chemistry and Industry*.
- Singleton, V. L. (1987). *Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications*. *38*(1), 9.
- Skouroumounis, G. K., Kwiatkowski, M. J., Francis, I. L., Oakey, H., Capone, D. L., Duncan, B., Sefton, M. A., & Waters, E. J. (2005). The impact of closure type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years' storage. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *11*(3), 369–377. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00036.x>
- Skouroumounis, G. K., Massy-Westropp, R. A., Sefton, M. A., & Williams, P. J. (1992). Precursors of damascenone in fruit juices. *Tetrahedron Letters*, *33*(24), 3533–3536. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)92682-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)92682-0)
- Skouroumounis, G., & Waters, E. (2007). Oxygen ingress into bottled wine. *Technical Review*, *170*.
- Slabizki, P., Legrum, C., Wegmann-Herr, P., Fischer, C., & Schmarr, H.-G. (2016). Quantification of cork off-flavor compounds in natural cork stoppers and wine by multidimensional gas chromatography mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, *242*(6), 977–986. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2604-x>
- Slaghenaufi, D., Perello, M.-C., Marchand, S., & de Revel, G. (2016). Quantification of megastigmatrienone, a potential contributor to tobacco aroma in spirits. *Food Chemistry*, *203*, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.034>
- Slaghenaufi, D., Perello, M.-C., Marchand-Marion, S., Tempere, S., & de Revel, G. (2014). Quantitative solid phase microextraction – Gas chromatography mass spectrometry analysis of five megastigmatrienone isomers in aged wine. *Analytica Chimica Acta*, *813*, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.01.019>
- Slaghenaufi, D., & Ugliano, M. (2018). Norisoprenoids, Sesquiterpenes and Terpenoids Content of Valpolicella Wines During Aging: Investigating Aroma Potential in Relationship to Evolution of Tobacco and Balsamic Aroma in Aged Wine. *Frontiers in Chemistry*, *6*, 66. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00066>
- Snyder, L. R. (1974). Classification of the solvent properties of common liquids. *Journal of Chromatography A*, *92*(2), 223–230. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)85732-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)85732-5)
- Soares da Costa, M., Gonçalves, C., Ferreira, A., Ibsen, C., Guedes de Pinho, P., & Silva Ferreira, A. C. (2004). Further Insights into the Role of Methional and Phenylacetaldehyde in Lager Beer Flavor Stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(26), 7911–7917. <https://doi.org/10.1021/jf049178l>

- Sonni, F., Clark, A. C., Prenzler, P. D., Riponi, C., & Scollary, G. R. (2011). Antioxidant Action of Glutathione and the Ascorbic Acid/Glutathione Pair in a Model White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(8), 3940–3949. <https://doi.org/10.1021/jf104575w>
- Souza Gonzaga, L., Capone, D. L., Bastian, S. E. P., & Jeffery, D. W. (2021). Defining wine typicity: Sensory characterisation and consumer perspectives. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *27*(2), 246–256. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12474>
- Spillman, P. J., Iland, P. G., & Sefton, M. A. (1998). Accumulation of volatile oak compounds in a model wine stored in American and Limousin oak barrels. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *4*(2), 67–73. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1998.tb00136.x>
- Sponholz, W. R., Hoffmann, A., David, F., & Sandra, P. T. (2001). Detection of corkiness in wine by analysis of 2, 4, 6-trichloroanisole with stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC/MS. *Mitteilungen Klosterneuburg Rebe Und Wein, Obstbau Und Fruchterwertung*, *51*(6), 248–253.
- Stamatopoulos, P., Frérot, E., Tempère, S., Pons, A., & Darriet, P. (2014). Identification of a New Lactone Contributing to Overripe Orange Aroma in Bordeaux Dessert Wines via Perceptual Interaction Phenomena. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(12), 2469–2478. <https://doi.org/10.1021/jf405397c>
- Steinhaus, M. (2015). Characterization of the Major Odor-Active Compounds in the Leaves of the Curry Tree *Bergera koenigii* L. by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(16), 4060–4067. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01174>
- Stübner, C. A., & Steinhaus, M. (2023). Sotolon and (2 E ,4 E ,6 Z )-Nona-2,4,6-trienal Are the Key Compounds in the Aroma of Walnuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *71*(18), 7099–7108. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01002>
- Styger, G., Prior, B., & Bauer, F. F. (2011). Wine flavor and aroma. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, *38*(9), 1145–1159. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-1018-4>
- Suhas, E., Shinkaruk, S., & Pons, A. (2024). Optimizing the identification of thiols in red wines using new oak-wood accelerated reductive treatment. *Food Chemistry*, *437*, 137859. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137859>
- Sumby, K. M., Grbin, P. R., & Jiranek, V. (2010). Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. *Food Chemistry*, *121*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.004>
- Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., & Pretorius, I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *11*(2), 139–173. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x>
- Swiegers, J. H., & Pretorius, I. S. (2005). Yeast Modulation of Wine Flavor. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 57, pp. 131–175). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(05\)57005-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(05)57005-9)

- Takahashi, K., Someya, T., Muraki, S., & Yoshida, T. (1980). A New Keto-alcohol, (–)-Mintlactone, (+)- iso Mintlactone and Minor Components in Peppermint Oil. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44(7), 1535–1543. <https://doi.org/10.1080/00021369.1980.10864154>
- Tarasov, A., Giuliani, N., Dobrydnev, A., Müller, N., Volovenko, Y., Rauhut, D., & Jung, R. (2019). Absorption of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) from wine by bottle closures. *European Food Research and Technology*, 245(11), 2343–2351. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03351-8>
- Tarasov, A., Giuliani, N., Dobrydnev, A., Schuessler, C., Volovenko, Y., Rauhut, D., & Jung, R. (2020). 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) Sensory Thresholds in Riesling Wine. *Foods*, 9(5), 606. <https://doi.org/10.3390/foods9050606>
- Taylor, M. K., Young, T. M., Butzke, C. E., & Ebeler, S. E. (2000). Supercritical Fluid Extraction of 2,4,6-Trichloroanisole from Cork Stoppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2208–2211. <https://doi.org/10.1021/jf991045q>
- Teillet, E., Urbano, C., Cordelle, S., & Schlich, P. (2010). Consumer perception and preference of bottled and tap water. *Journal of Sensory Studies*, 25(3), 463–480. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2010.00280.x>
- Teixeira, R. T., & Pereira, H. (2009). Ultrastructural Observations Reveal the Presence of Channels between Cork Cells. *Microscopy and Microanalysis*, 15(6), 539–544. <https://doi.org/10.1017/S1431927609990432>
- Tempere, S., Cuzange, E., Malak, J., Bougeant, J. C., de Revel, G., & Sicard, G. (2011). The Training Level of Experts Influences their Detection Thresholds for Key Wine Compounds. *Chemosensory Perception*, 4(3), 99–115. <https://doi.org/10.1007/s12078-011-9090-8>
- Tempere, S., Hamtat, M. L., Bougeant, J. C., de Revel, G., & Sicard, G. (2014). Learning Odors: The Impact of Visual and Olfactory Mental Imagery Training on Odor Perception. *Journal of Sensory Studies*, 29(6), 435–449. <https://doi.org/10.1111/joss.12124>
- Thibon, C., Böcker, C., Shinkaruk, S., Moine, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2016). Identification of S-3-(hexanal)-glutathione and its bisulfite adduct in grape juice from *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc as new potential precursors of 3SH. *Food Chemistry*, 199, 711–719. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.069>
- Thibon, C., Pons, A., Mouakka, N., Redon, P., Méreau, R., & Darriet, P. (2015). Comparison of electron and chemical ionization modes for the quantification of thiols and oxidative compounds in white wines by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1415, 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.08.027>
- Thomas-Danguin, T. (1997). *Intensité olfactive de composés purs et de mélanges: Application au masquage des odeurs*. Lyon 1.

- Thomas-Danguin, T., Rouby, C., Sicard, G., Vigouroux, M., Farget, V., Johanson, A., Bengtson, A., Hall, G., Ormel, W., & De Graaf, C. (2003). Development of the ETOC: a European test of olfactory capabilities. *Rhinology*, *41*(3), 134–151.
- Tomasino, E., Cerrato, D. C., Aragon, M., Fryer, J., Garcia, L., Ashmore, P. L., & Collins, T. S. (2023). A combination of thiophenols and volatile phenols cause the ashy flavor of smoke taint in wine. *Food Chemistry Advances*, *2*, 100256. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100256>
- Tominaga, T., Blanchard, L., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2000). A Powerful Aromatic Volatile Thiol, 2-Furanmethanethiol, Exhibiting Roast Coffee Aroma in Wines Made from Several *Vitis vinifera* Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(5), 1799–1802. <https://doi.org/10.1021/jf990660r>
- Tominaga, T., & Dubourdieu, D. (2006). A Novel Method for Quantification of 2-Methyl-3-furanthiol and 2-Furanmethanethiol in Wines Made from *Vitis vinifera* Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(1), 29–33. <https://doi.org/10.1021/jf050970b>
- Tominaga, T., Furrer, A., Henry, R., & Dubourdieu, D. (1998). Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines. *Flavour and Fragrance Journal*, *13*(3), 159–162. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199805/06\)13:3<159::AID-FFJ709>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199805/06)13:3<159::AID-FFJ709>3.0.CO;2-7)
- Tominaga, T., Guimbertau, G., & Dubourdieu, D. (2003a). Contribution of Benzenemethanethiol to Smoky Aroma of Certain *Vitis vinifera* L. Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(5), 1373–1376. <https://doi.org/10.1021/jf020756c>
- Tominaga, T., Guimbertau, G., & Dubourdieu, D. (2003b). Role of Certain Volatile Thiols in the Bouquet of Aged Champagne Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(4), 1016–1020. <https://doi.org/10.1021/jf020755k>
- Tressl, R., & Silwar, R. (1981). Investigation of sulfur-containing components in roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *29*(5), 1078–1082. <https://doi.org/10.1021/jf00107a045>
- Ugliano, M. (2013). Oxygen Contribution to Wine Aroma Evolution during Bottle Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(26), 6125–6136. <https://doi.org/10.1021/jf400810v>
- Ugliano, M., Dieval, J.-B., Siebert, T. E., Kwiatkowski, M., Aagaard, O., Vidal, S., & Waters, E. J. (2012). Oxygen Consumption and Development of Volatile Sulfur Compounds during Bottle Aging of Two Shiraz Wines. Influence of Pre- and Postbottling Controlled Oxygen Exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(35), 8561–8570. <https://doi.org/10.1021/jf3014348>
- Ugliano, M., Kwiatkowski, M., Vidal, S., Capone, D., Siebert, T., Dieval, J.-B., Aagaard, O., & Waters, E. J. (2011). Evolution of 3-Mercaptohexanol, Hydrogen Sulfide, and Methyl Mercaptan during Bottle Storage of Sauvignon blanc Wines. Effect of Glutathione, Copper, Oxygen Exposure, and Closure-Derived Oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(6), 2564–2572. <https://doi.org/10.1021/jf1043585>

- Ugliano, M., Siebert, T., Mercurio, M., Capone, D., & Henschke, P. A. (2008). Volatile and Color Composition of Young and Model-Aged Shiraz Wines As Affected by Diammonium Phosphate Supplementation Before Alcoholic Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9175–9182. <https://doi.org/10.1021/jf801273k>
- Vallet-Courbin, A., Lucas, M., Dutilh, L., Miot-Sertier, C., Windholtz, S., Lucas, P., Masneuf-Pomarede, I., & Maupeu, J. (2022). L'identification des levures et bactéries œnologiques par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF: Langue originale de l'article : français. *IVES Technical Reviews, Vine and Wine*. <https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2022.5534>
- Van Leeuwen, C., Barbe, J.-C., Darriet, P., Destrac-Irvine, A., Gowdy, M., Lytra, G., Marchal, A., Marchand, S., Plantevin, M., Poitou, X., Pons, A., & Thibon, C. (2022). Aromatic maturity is a cornerstone of terroir expression in red wine: This article is published in cooperation with Terclim 2022 (XIVth International Terroir Congress and 2nd ClimWine Symposium), 3-8 July 2022, Bordeaux, France. *OENO One*, 56(2), 335–351. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2022.56.2.5441>
- Van Leeuwen, C., Barbe, J.-C., Darriet, P., Geffroy, O., Gomès, E., Guillaumie, S., Helwi, P., Laboyrie, J., Lytra, G., Le Menn, N., Marchand, S., Picard, M., Pons, A., Schüttler, A., & Thibon, C. (2020). Recent advancements in understanding the terroir effect on aromas in grapes and wines: This article is published in cooperation with the XIIIth International Terroir Congress November 17-18 2020, Adelaide, Australia. Guests editors: Cassandra Collins and Roberta De Bei. *OENO One*, 54(4). <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54.4.3983>
- Van Leeuwen, C., Barbe, J.-C., Garbay, J., Gowdy, M., Lytra, G., Plantevin, M., Pons, A., Thibon, C., & Marchand, S. (2023). Aromatic ripeness may be the type of maturity that impacts red wine typicity the most. Part II: Terroir factors and management practices affecting aromatic ripeness: Sourced from the research article: “Aromatic maturity is a cornerstone of terroir expression in red wine” (*OENO One*, 2022). Original language of the article: English. *IVES Technical Reviews, Vine and Wine*. <https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2023.7528>
- Venstrom, D., & Amoore, J. E. (1968). Olfactory Threshold, in Relation to Age, Sex or Smoking. *Journal of Food Science*, 33(3), 264–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb01364.x>
- Vidal, J. C., Gianduzzo, A., Chauvet, V., & Sirena, I. (2011). *Validation of Non-Invasive Measurement of Dissolved CO<sub>2</sub> in Bottles of Still Wine*. 5.
- Vidal, J.-C., Caillé, S., Samson, A., & Salmon, J.-M. (2017a). Comparison of the effect of 8 closures in controlled industrial conditions on the shelf life of a red wine. *BIO Web of Conferences*, 9, 02024. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20170902024>
- Vidal, J.-C., Caillé, S., Samson, A., & Salmon, J.-M. (2017b). Impact of eight closures in controlled industrial conditions on the shelf life of two (red and rosé) wines. *OENO One*, 51(4). <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.50.4.1618>

- Vidal, J.-C., & Moutounet, M. (2007, June 10). *Suivi de l'oxygène au cours du conditionnement: Nouveau critère de l'assurance qualité*. 30. World Congress of Vine and Wine. <https://hal.inrae.fr/hal-02756089>
- Vilanova, M., Zamuz, S., Vilariño, F., & Sieiro, C. (2007). Effect of *terroir* on the volatiles of *Vitis vinifera* cv. Albariño. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(7), 1252–1256. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2833>
- Vincent, J.-M., Margottin, C., Berlande, M., Cavagnat, D., Buffeteau, T., & Landais, Y. (2007). A concise organocatalytic and enantioselective synthesis of isotetronic acids. *Chemical Communications*, 45, 4782. <https://doi.org/10.1039/b711192d>
- Vinholes, J., Coimbra, M. A., & Rocha, S. M. (2009). Rapid tool for assessment of C13 norisoprenoids in wines. *Journal of Chromatography A*, 1216(47), 8398–8403. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.061>
- Waterhouse, A. L., & Laurie, V. F. (2006). *Oxidation of Wine Phenolics: A Critical Evaluation and Hypotheses*. 8.
- Waters, E. J., Peng, Z., Pocock, K. F., & Williams, P. J. (1996). The role of corks in oxidative spoilage of white wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2(3), 191–197. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1996.tb00108.x>
- Werkhoff, P., Güntert, M., Krammer, G., Sommer, H., & Kaulen, J. (1998). Vacuum Headspace Method in Aroma Research: Flavor Chemistry of Yellow Passion Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 1076–1093. <https://doi.org/10.1021/jf970655s>
- Wilkinson, K. L., Prida, A., & Hayasaka, Y. (2013). Role of Glycoconjugates of 3-Methyl-4-hydroxyoctanoic Acid in the Evolution of Oak Lactone in Wine during Oak Maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(18), 4411–4416. <https://doi.org/10.1021/jf400175h>
- Windes, S., Bettenhausen, H. M., Simaey, K. R. V., Clawson, J., Fisk, S., Heuberger, A. L., Lim, J., Queisser, S. H., Shellhammer, T. H., & Hayes, P. M. (2021). Comprehensive Analysis of Different Contemporary Barley Genotypes Enhances and Expands the Scope of Barley Contributions to Beer Flavor. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 79(3), 281–305. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1843964>
- Winterhalter, P. (1991). 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) formation in wine. 1. Studies on the hydrolysis of 2,6,10,10-tetramethyl-1-oxaspiro[4.5]dec-6-ene-2,8-diol rationalizing the origin of TDN and related C13 norisoprenoids in Riesling wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(10), 1825–1829. <https://doi.org/10.1021/jf00010a027>
- Winterhalter, P. (1996). *Carotenoid-derived aroma compounds: Biogenetic and biotechnological aspects*. ACS Publications.
- Winterhalter, P., Sefton, M. A., & Williams, P. J. (1990). Volatile C-Norisoprenoid Compounds • 13, in *Riesling Wine Are Generated From Multiple Precursors*. 41(4), 277–283.



- Wirth, J., Caillé, S., Souquet, J. M., Samson, A., Dieval, J. B., Vidal, S., Fulcrand, H., & Cheynier, V. (2012). Impact of post-bottling oxygen exposure on the sensory characteristics and phenolic composition of Grenache rosé wines. *Food Chemistry*, *132*(4), 1861–1871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.019>
- Wirth, J., Morel-Salmi, C., Souquet, J. M., Dieval, J. B., Aagaard, O., Vidal, S., Fulcrand, H., & Cheynier, V. (2010). The impact of oxygen exposure before and after bottling on the polyphenolic composition of red wines. *Food Chemistry*, *123*(1), 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.008>
- Wood, C., Siebert, T. E., Parker, M., Capone, D. L., Elsey, G. M., Pollnitz, A. P., Eggers, M., Meier, M., Vössing, T., Widder, S., Krammer, G., Sefton, M. A., & Herderich, M. J. (2008). From Wine to Pepper: Rotundone, an Obscure Sesquiterpene, Is a Potent Spicy Aroma Compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(10), 3738–3744. <https://doi.org/10.1021/jf800183k>
- Xu, H., Liu, X., Zhao, J., & Gao, Y. (2008). Effects of ribose to cysteine ratios on the formation of volatile compounds from the Maillard reaction in supercritical carbon dioxide. *Food Research International*, *41*(7), 730–737. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.05.005>
- Zalacain, A., Marín, J., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2007). Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction. *Talanta*, *71*(4), 1610–1615. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.07.051>
- Zhang, B., Fan, Z., Guo, Z., & Xi, C. (2019). Reduction of CO<sub>2</sub> with NaBH<sub>4</sub>/I<sub>2</sub> for the Conversion of Thiophenols to Aryl Methyl Sulfides. *The Journal of Organic Chemistry*, *84*(13), 8661–8667. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b01180>
- Zhang, P., Fuentes, S., Siebert, T., Krstic, M., Herderich, M., Barlow, E. W. R., & Howell, K. (2016). Terpene evolution during the development of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grapes. *Food Chemistry*, *204*, 463–474. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.125>
- Zhou, Z., Ji, Z., Liu, S., Han, X., Zheng, F., & Mao, J. (2019). Characterization of the volatile compounds of huangjiu using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry (GC × GC-TOFMS). *Journal of Food Processing and Preservation*, *43*(10). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14159>
- Zhu, J., Wang, L., Xiao, Z., & Niu, Y. (2018). Characterization of the key aroma compounds in mulberry fruits by application of gas chromatography–olfactometry (GC-O), odor activity value (OAV), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and flame photometric detection (FPD). *Food Chemistry*, *245*, 775–785. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.112>
- Zviely, M. (2011). The Passion Fruit Core: 2-Methyl-4-propyl- 1,3-oxathiane. *Perfumer & Flavorist*, *36*(6), 46–49.

## Résumé

Ce travail de recherche a pour objectif de caractériser le vieillissement aromatique des grands vins blancs et rouges, afin de mieux comprendre l'impact de la perméabilité à l'oxygène des obturateurs (OTR) sur leur évolution. Le premier volet présente l'adaptation d'un protocole de coulométrie permettant de caractériser l'OTR du système d'obturation et son lien avec l'évolution sensorielle et moléculaire d'un vin blanc de Sauvignon conservés 12 ans en bouteille. Ces résultats ont permis de confirmer la forte hétérogénéité des vieux bouchons en liège naturel et plus généralement l'impact de l'obturateur sur un ensemble de marqueurs connus (thiols volatils, aldéhydes de Strecker, SO<sub>2</sub> libre, DCO<sub>2</sub>) et de nouveaux marqueurs associés au bouquet. Ces résultats obtenus sur un nombre limité de vieux vins ont été étendus à l'ensemble des vins blancs d'une appellation de Bordeaux pour lesquels l'importance de la teneur en SO<sub>2</sub> libre à la mise en bouteille et le choix d'un obturateur un liège microaggloméré figurent parmi les bonnes pratiques permettant de préserver le potentiel de garde de ce type de vins. Le second volet est dédié à l'étude du bouquet de vieillissement des vins rouges en lien avec l'OTR.

Nos connaissances étant moins étendues que pour les vins blancs, ce travail a débuté par la caractérisation moléculaire de ce type d'évolution par deux approches d'identifications distinctes. Une fois préparé, l'extrait organique a été fractionné par CLHP. Après flairage des fractions, les plus intéressantes ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O-TOF MS). Cette stratégie nous a permis d'identifier l'abhexone (5-ethyl-3-hydroxy-4-methyl-5H-furan-2-one) dans les vins rouges. La quantification de ce composé chiral par CPG-MS/MS sur colonne capillaire de type non-polaire ou chirale, montre l'impact de la durée du vieillissement sur la distribution de ses énantiomères. Pour la seconde approche nous avons développé une nouvelle stratégie de réduction accélérée (A.R.T.) à partir d'extraits de chêne (*Q. petraea*). Une fois les conditions de réaction optimisées, l'analyse des extraits par CPG bidimensionnelles (CPG-CPG-O-TOF MS) nous a permis d'identifier de nouveaux thiols rappelant le caractère « viande grillée » : le 2-méthoxybenzenethiol, le 5-méthyl-2-furanmethanethiol, le 2,5-diméthyl-3-furanthiol, le 2-méthylbenzenethiol, le 2,6-diméthylbenzenethiol et le 2,6-diméthoxybenzenethiol. Ce sont des composés soufrés dérivés du bois de chêne et produits par la réaction A.R.T. Leur identification dans les vieux vins rouges a été réalisée conjointement par CPG-PFPD et CPG-MS/MS. L'étude de leur distribution en lien avec l'OTR du bouchon et leurs propriétés sensorielles montrent qu'ils contribuent, pour partie, au bouquet de vieillissement des vins rouges.

Mots clés : arômes, spectrométrie de masse, vin, chromatographie gazeuse, analyse sensorielle, olfactométrie

## Abstract

The aim of this research is to characterize the aromatic aging of great white and red wines, in order to gain a better understanding of the impact of the oxygen permeability of the stoppers (OTR) on their development. The first part presents the adaptation of a coulometric protocol to characterize the OTR of the obturator system and its relationship with the sensory and molecular evolution of a Sauvignon white wine aged 12 years in bottle. These results confirmed the considerable heterogeneity of old natural corks and, more generally, the influence of the closure on a series of known aromatic markers (volatile thiols, Strecker aldehydes, SO<sub>2</sub>, DCO<sub>2</sub>) and new markers associated with the bouquet. These results, obtained on a limited number of old wines, have been extended to all the white wines of a Bordeaux appellation, for which a high level of free SO<sub>2</sub> at bottling and the choice of a microagglomerated cork stopper are among the best practices for preserving the aging potential of this type of wine.

The second part was dedicated to the study of the aging bouquet of red wines in relation to OTR. Since our knowledge is less extensive than for white wines, this work began with the molecular characterization of this type of evolution using two separate identification approaches. Once prepared, the organic extract was fractionated by HPLC. After illuminating the fractions, the most interesting ones were analyzed by gas chromatography coupled with olfactometry (GPC-O-TOF MS). This strategy allowed the identification of abhexone (5-ethyl-3-hydroxy-4-methyl-5H-furan-2-one) in red wines. Quantification of this chiral compound by CPG-MS/MS on a non-polar or chiral capillary column shows the influence of aging time on the distribution of its enantiomers. For the second approach, we developed a new accelerated reduction strategy (A.R.T.) using oak (*Q. petraea*) extracts. After optimizing the reaction conditions, the analysis of the extracts by two-dimensional GPC (CPG-O-TOF MS) allowed us to identify new thiols with a "grilled meat" character: 2-methoxybenzenethiol, 5-methyl-2-furanmethanethiol, 2,5-dimethyl-3-furanthiol, 2-methylbenzenethiol, 2,6-dimethylbenzenethiol and 2,6-dimethoxybenzenethiol. These are sulfur compounds derived from oak and produced by the A.R.T. reaction. Their identification in old red wines was carried out jointly by CPG-PFPD and CPG-MS/MS. The study of their distribution in relation to the OTR of the cork and their sensory properties show that they contribute, in part, to the aging bouquet of red wines.

Keywords : aromas, mass spectrometry, wine, gas chromatography, sensory analysis, olfactometry