

Origines de la sucrosité conférée par l'élevage des vins secs : rôles des triterpénoïdes du bois de chêne

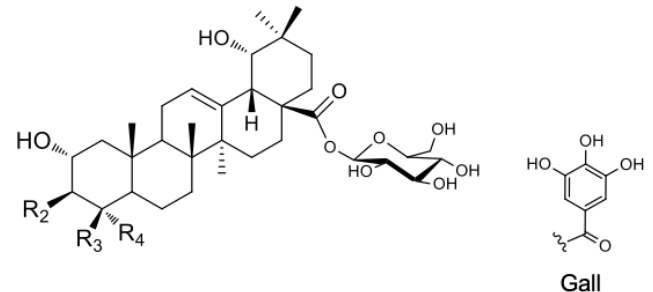
>>> L'élevage en barrique influence les caractéristiques sensorielles des vins et en module notamment la saveur sucrée. Grâce à une approche inductive, plusieurs triterpènes sucrés, les QTT, ont été identifiés dans le bois de chêne. Une analyse quantitative a permis de montrer l'incidence significative de l'espèce : le chêne sessile libère plus de triterpènes sucrés tandis que le chêne pédonculé est plus riche en triterpènes amers. Il est désormais possible de différencier les deux espèces sur la base de leur composition triterpénique. <<<

■ Introduction

Depuis près de deux mille ans, l'homme emploie des contenants en bois destinés au transport et à l'élaboration des vins et des spiritueux. Au fil des siècles, la nature de l'essence utilisée, les techniques de conception des fûts ou encore leur usage ont évolué sur la base d'observations empiriques et d'expérimentations. De nos jours, les barriques sont très majoritairement fabriquées avec du bois de chêne ; elles sont réservées à l'élevage et, parfois, à la vinification. Lors du contact avec le bois, la composition des vins, leur stabilité et leurs caractéristiques sensorielles évoluent. En pratique, on observe un apport de composés d'arômes et de saveurs. L'origine moléculaire de l'aromatization des vins au contact du bois de chêne est bien connue. La vanilline, la whisky-lactone, des phénols volatils comme l'eugénol ou le gâïacol, et le 2-furanemethanethiol, en sont les composés volatils clés. En parallèle de cet apport aromatique, il a été démontré que les vins secs gagnaient en saveur sucrée au contact du bois de chêne et que les composés volatils comme la vanilline n'étaient pas responsables de ce phénomène¹. Toutefois, les composés sapides du bois demeurent en grande partie méconnus.

■ Développement d'un protocole de purification guidé par le goût

Afin de caractériser les molécules du bois de chêne responsables du gain de saveur sucrée observé lors de l'élevage, une démarche inductive a été mise en place. Plusieurs techniques séparatives ont été utilisées et à l'issue de chaque étape, les différentes fractions ont été dégustées afin de ne conserver que la plus sucrée d'entre elles. Ainsi, un macérat de bois de chêne non chauffé a été soumis à des extractions liquide/liquide successives puis à une expérience de chromatographie de partage centrifuge (CPC). Cette technique, fréquemment utilisée en pharmacognosie pour rechercher des molécules bioactives, a permis de fractionner l'extrait. Son couplage, inédit, avec l'analyse sensorielle a été nommé CPC-Gustatométrie, par analogie avec la chromatographie en phase gazeuse – Olfactométrie, utilisée par les aromaticiens. Son utilisation a permis d'isoler une fraction sucrée, contenant quatre composés qui ont ensuite été purifiés par HPLC. Deux de ces molécules se sont



Composé	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
QTT I	OH	OH	CH ₃	CH ₂ OGall
QTT II	OH	OGall	CH ₂ OH	CH ₃
QTT III	OH	OGall	CH ₃	CH ₂ OH
Glu AB	OH	OH	COOH	CH ₃

Figure 1. Structures chimiques de quelques triterpènes du bois de chêne.

révéler être sucrées. Leur caractérisation par résonance magnétique nucléaire a révélé qu'il s'agissait de triterpènes glucosylés et galloylés. Ces composés, jamais identifiés dans la nature jusqu'alors, ont été nommés Quercotriterpénosides (QTT) I et II (Fig. 1)². L'étude de leurs propriétés sensorielles a montré que ces composés à saveur sucrée diminuaient la perception de l'amertume. Le seuil de détection du QTT I dans le vin a été établi à 590 µg/L, soit plus de 6000 fois plus bas que celui du glucose.

■ Recherche de nouveaux triterpènes sapides

La découverte de ces deux molécules sucrées a mis en lumière la famille des triterpènes, qui n'avait été que peu étudiée dans le bois de chêne. Pour pallier ce manque de connaissances, la spectrométrie de masse à transformée de Fourier a été utilisée pour rechercher dans le bois de chêne la présence d'autres triterpénoïdes, différant des QTT par la nature de leur génine (leur squelette de base) ou par la position, le nombre et le type de leurs groupements fonctionnels. Ce criblage a révélé l'existence de nombreux composés, dont la majorité a pu être isolée³. Au total, 39 composés ont été purifiés, dont 23 n'avaient jamais été identifiés et 12 autres jamais observés dans les vins (Fig. 1). Seuls quatre triterpènes, ne possédant pas de groupement gallate, avaient été identifiés⁴. L'un d'entre eux, le Glu-AB, développe une légère amertume et il en est de même pour plusieurs molécules de structure proche. En revanche, les dérivés des QTT développent majoritairement une saveur sucrée.

■ Influence de l'espèce de chêne sur la teneur en QTT

Une méthode de dosage des QTT I, II et III (sucrés) ainsi que du Glu-AB (amer) par LC-HRMS a été développée et validée. Elle a été appliquée à des extraits de bois de

chêne pour étudier l'influence de l'espèce de chêne sur la composition triterpénique. Pour cela, des prélèvements ont été réalisés sur 46 arbres dans 8 forêts françaises : un échantillon de feuille pour déterminer l'espèce par une analyse génétique, en collaboration avec l'UMR Biogeco⁵, et un échantillon de bois, pour doser les QTT I, II, III et le Glu-AB par LC-HRMS.

Dans chaque forêt, des échantillons des deux espèces ont été observés (27 de chêne sessile, 19 de chêne pédonculé). Les triterpènes ont été détectés dans tous les échantillons, à des concentrations pouvant dépasser 1 mg/g de bois. L'application d'un test statistique a montré des teneurs moyennes en QTT significativement plus élevées dans les échantillons de chêne sessile que dans ceux de chêne pédonculé⁶. À l'inverse, le chêne pédonculé contenait davantage de Glu-AB. Cette tendance était identique pour des échantillons provenant de la même forêt, suggérant que l'origine botanique du chêne influence davantage la composition triterpénique du bois que la provenance géographique. Pour chaque composé, une forte variabilité inter-individuelle a été observée au sein d'une même espèce, rejoignant les tendances déjà observées pour la whisky-lactone, plus abondante dans le chêne sessile⁷, ou encore les ellagitannins, plus présents dans le bois de chêne pédonculé⁸.

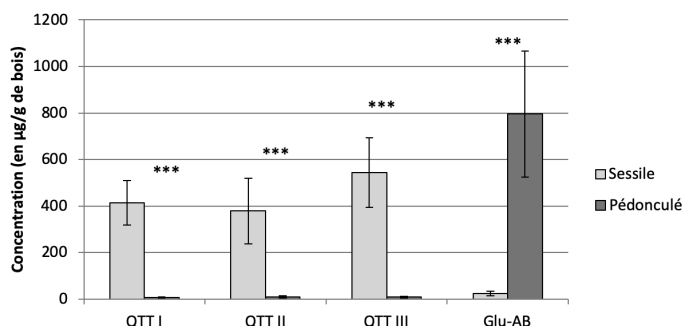


Figure 2. Concentrations moyennes en QTT I, II, III et en Glu-AB mesurées dans les échantillons de bois de chêne sessile et pédonculé.

Ces résultats établissent l'influence notable de l'espèce de chêne sur la teneur en composés triterpéniques et suggèrent ses conséquences sensorielles. Le chêne sessile est en effet plus riche en triterpènes sucrés (QTT) tandis que le chêne pédonculé contient davantage de triterpènes amers (Glu-AB). Compte tenu des fortes variabilités inter-individuelles observées au sein de chaque espèce, aucun de ces composés triterpéniques ne peut, individuellement, permettre une identification à coup sûr de l'origine botanique d'un échantillon de bois. Il en est de même pour les autres extractibles du bois de chêne connus à ce jour, de telle sorte que l'affectation à l'espèce d'un échantillon ne pouvait être réalisée que par les analyses génétiques évoquées précédemment. Or, l'examen des chromatogrammes obtenus lors de l'analyse des 46 échantillons montrait une influence de l'espèce sur le profil triterpénique du bois. Afin de traduire ce profil triterpénique en une valeur quantifiable, un indice triterpénique (IT) a été défini de la façon suivante :

$$IT = \log \frac{[QTT I] + [QTT II] + [QTT III]}{[Glu - AB]}$$

L'IT moyen était positif pour le chêne sessile et négatif pour le chêne pédonculé (1,9 et -1,5 respectivement) et les différences observées entre les deux espèces étaient significatives à 0,1 %. En outre, les écarts types obtenus pour chaque espèce étaient très faibles, traduisant de faibles différences inter-individuelles. La mesure de l'IT

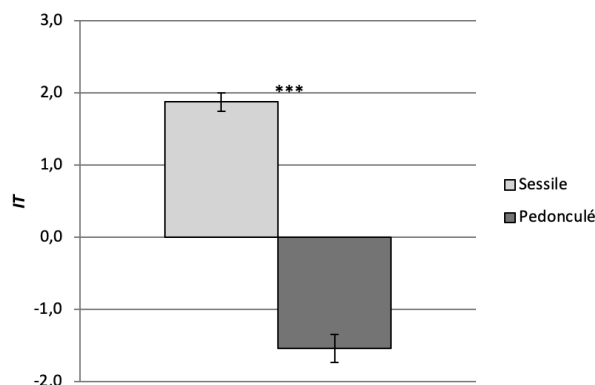


Figure 3. Valeurs moyennes de l'IT calculées pour les 46 échantillons de chêne sessile et pédonculé analysés.

dans le bois apparait ainsi comme la première méthode chimique permettant d'identifier l'espèce de chêne de tonnellerie. Elle a donné lieu à un brevet déposé en Europe et aux États-Unis, désormais exploité.

Conclusion

Les travaux entrepris pour donner un éclairage moléculaire à l'augmentation de saveur sucrée perçue lors de l'élevage sous bois a conduit à l'identification de plusieurs triterpènes du chêne. Ces composés sont fortement affectés par l'espèce de chêne utilisé en tonnellerie. Il est désormais possible de distinguer le bois de chêne sessile du pédonculé, par une simple analyse chimique réalisée sur du bois mûri et même chauffé. Ces travaux ouvrent de nouvelles perspectives quant à la sélection des bois en tonnellerie et son adaptation à l'identité des vins élaborés. ■

Axel Marchal¹, Pierre Waffo-Tégou¹, Marine Gammacurta¹, Andréi Prida², Denis Dubourdieu¹

¹ Univ. Bordeaux, Unité de Recherche CEnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France

² Seguin-Moreau France, Z.I. Merpins, BP 94, F-16103 Cognac, France.

1 Marchal, A.; Pons, A.; Lavigne, V.; Dubourdieu, D. Contribution of Oak Wood Ageing to the Sweet Perception of Dry Wines. *Aust. J. Grape Wine Res.* 2013, 19 (1), 11–19.

2 Marchal, A.; Waffo-Tégou, P.; Génin, E.; Mérillon, J. M.; Dubourdieu, D. Identification of New Natural Sweet Compounds in Wine Using Centrifugal Partition Chromatography-Gustatory and Fourier Transform Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2011, 83 (24), 9629–9637.

3 Gammacurta, M.; Waffo-Tégou, P.; Winstel, D.; Cretin, B. N.; Sindt, L.; Dubourdieu, D.; Marchal, A. Triterpenoids from *Quercus Petraea*: Identification in Wines and Spirits and Sensory Assessment. *J. Nat. Prod.* 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00682>.

4 Arramon, G.; Saucier, C.; Colombani, D.; Glories, Y. Identification of Triterpene Saponins in *Quercus Robur* L. Q. *Petraea* Liebl. Heartwood by LC-ESI/MS and NMR. *Phytochem. Anal.* 2002, 13 (6), 305–310.

5 Guichoux, E.; Lagache, L.; Wagner, S.; Léger, P.; Petit, R. J. Two Highly Validated Multiplexes (12-Plex and 8-Plex) for Species Delineation and Parentage Analysis in Oaks (*Quercus* Spp.). *Mol. Ecol. Resour.* 2011, 11 (3), 578–585. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.02983.x>.

6 Marchal, A.; Prida, A.; Dubourdieu, D. New Approach for Differentiating Sessile and Pedunculate Oak: Development of a LC-HRMS Method To Quantitate Triterpenoids in Wood. *J. Agric. Food Chem.* 2016, 64 (3), 618–626. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05056>.

7 Prida, A.; Ducousso, A.; Petit, R. J.; Nepveu, G.; Puech, J. L. Variation in Wood Volatile Compounds in a Mixed Oak Stand: Strong Species and Spatial Differentiation in Whisky-Lactone Content. *Ann. For. Sci.* 2007, 64 (3), 313–320.

8 Prida, A.; Boulet, J. C.; Ducousso, A.; Nepveu, G.; Puech, J. L. Effect of Species and Ecological Conditions on Ellagitannin Content in Oak Wood from an Even-Aged and Mixed Stand of *Quercus Robur* L. and *Quercus Petraea* Liebl. *Ann. For. Sci.* 2006, 63 (4), 415–424.