

Diversité chimique du bois de chêne de tonnellerie et classification des charges tanniques et des cuissons

Nolwenn Wirgot¹, Maria-Elena Diaz-Rubio¹, Youzhong Liu¹, Marie-Laure Badet-Murat², Christian Coelho¹, Jean-Charles Vicard³, Maria Nikolantonaki¹, Régis Gougeon¹

¹ UMR PAM Université de Bourgogne/Agro Sup Dijon – Institut universitaire de la vigne et du vin, Jules Guyot – Dijon – France,

² CEnologie par MLM – Saint-Médard-en-Jalles – France.

³ Groupe Vicard – Cognac – France.

Introduction

L'élevage des vins de garde en fûts de chêne est une tradition toujours respectée qui constitue une étape essentielle pour l'optimisation de la qualité organoleptique des vins. Le choix des fûts revêt donc une importance capitale. L'importante variabilité de composition chimique du bois de chêne, même pour une espèce donnée, dans une forêt donnée, voire au sein d'un même arbre peut avoir un impact sur l'homogénéité et la reproductibilité des fûts.

Or, le bois est une matrice extrêmement complexe, due principalement à sa grande variabilité

de composés. Le bois de chêne est composé de macromolécules (cellulose, hémicellulose, lignine) mais aussi d'extractibles dont la proportion varie entre 2 et 10 % de la masse du bois sec. Les proportions respectives de ces macromolécules sont de 22-50 % pour la cellulose, 17-30 % pour l'hémicellulose et 17-30 % pour la lignine (Le Floch, Jourdes et Teissedre, 2015). La dégradation thermique de la lignine au cours de la cuisson du fût conduit à la formation de composés aromatiques tels que le guaiacol, le méthyl-4-guaiacol et le syringol qui se traduisent par des arômes épicés et des notes fumées (Jordao, Ricardo-Da-Silva, Laureano, Adams, Demyttenaere, Verhé et al., 2006). Les composés extractibles du bois sont des éléments de plus faible poids moléculaire, solubles dans les solvants organiques ou dans l'eau. Cependant, la fraction extractible est non seulement constituée de composés volatils, mais également d'un grand nombre de composés non volatils tels que les ellagitannins ou les triterpènes, coumarines, lignines et polysaccharides (Marchal, Waffo-Tégou, Génin, Mérillon et Dubourdieu, 2011; Mosedale, Puech et Feuillat, 1999), dont la diversité reste encore largement méconnue à ce jour (Gougeon, Lucio, De Boel, Frommberger, Hertkorn, Peyron et al., 2009). La nature en composés extractibles du bois varie en fonction du potentiel tannique qui le caractérise; elle est également modifiée de manière plus

■ Photo 2: Procédé de cuisson des fûts Vicard.



■ Photos 1: Échantillons de bois de chêne de trois potentiels tanniques différents

(PTB: potentiel tannique bas; PTM: potentiel tannique moyen et PTH: potentiel tannique haut, correspondant respectivement à 2000-4000, 4001-6000, et 6001-8000 µg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec).

PTB

PTM

PTH

G-170 °C

ou moins importante en fonction de l'intensité et la durée de la chauffe (Matricardi et Waterhouse, 1999).

Afin de mieux maîtriser l'élaboration des fûts, l'objectif de ce travail consiste en la caractérisation de la fraction extractible globale à l'aide de la spectrométrie de masse haute résolution sur une série d'échantillons de bois de chêne de différentes charges tanniques homogènes et connues (classification selon la teneur en ellagitannins totaux, basée sur la spectroscopie proche infrarouge (IR) sur bois non chauffé) et de différents chauffés (cuisson de haute précision par rayonnement) (Badet-Murat, Vicard, Leauté, Watrelot et Kennedy 2015).

Conduite des expérimentations

Dans le cadre de cette étude, une série d'échantillons de bois de chêne de trois potentiels tanniques différents (PTB: potentiel tannique bas; PTM: potentiel tannique moyen et PTH: potentiel tannique haut, correspondant respectivement à 2000-4000, 4001-6000, et 6001-8000 µg d'équivalent acide ellagique/g de bois sec) (photos 1) et de quatre profils de chauffe différents (blanche: 150 °C/1 heure; chauffés graduelles

en 4 paliers successifs, 1 h 30, le chiffre indique la température initiale G160, G170, G180) (*photo 2*) ont été solubilisés dans un vin synthétique à température ambiante et les fractions extraites ont ensuite été analysées par spectrométrie de masse à haute résolution (UPLC-MS-QToF).

Analyse des ellagitanins connus (approche ciblée)

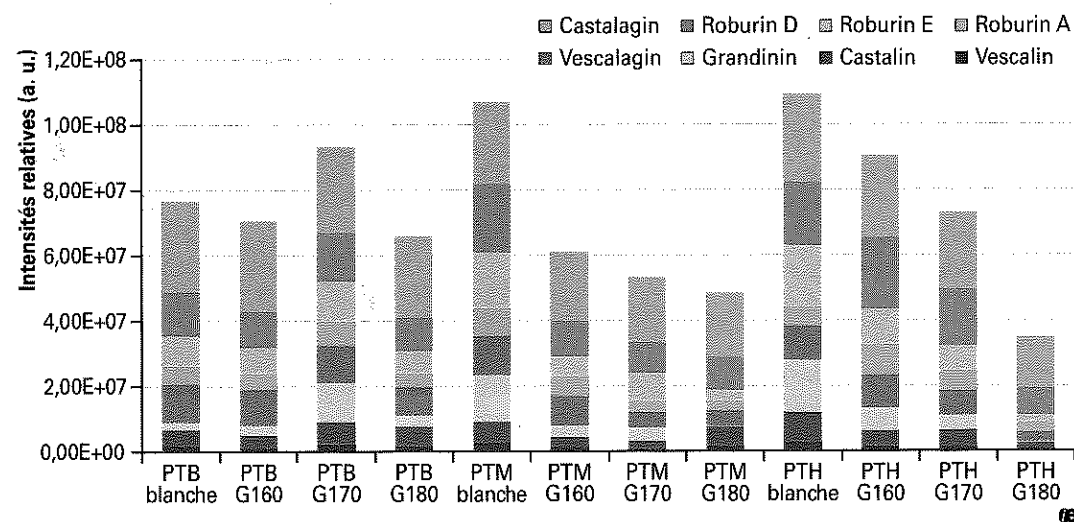
N'ayant aucun *a priori* sur le jeu de données, la toute première approche (ciblée) adoptée a consisté à se focaliser sur 8 ellagitanins, connus pour faire partie des constituants extractibles du bois de chêne (castalagin, vescalagin, grandinin, castalin, vescalin et roburin D, E et A) et retrouvés dans le bois à des concentrations non négligeables. Pour cela, les standards de ces ellagitanins de référence ont été analysés en UPLC-Q-ToF-MS exactement dans les mêmes conditions analytiques que les échantillons de bois pour avoir accès à leur signature spectrale propre (m/z et temps de rétention). Les masses représentatives de ces 8 ellagitanins ont ensuite été identifiées dans les échantillons de bois (*figure 1*).

L'analyse moléculaire des ellagitanins met en évidence une bonne adéquation entre la classification des bois par spectroscopie proche infrarouge (IR) réalisée en routine à la tonnellerie sur bois non chauffé et la charge tannique de la fraction soluble après chauffage à faible température (blanche, 150 °C) (*figure 1*). On constate par ailleurs une variation de la composition en ellagitanins des extraits en fonction du

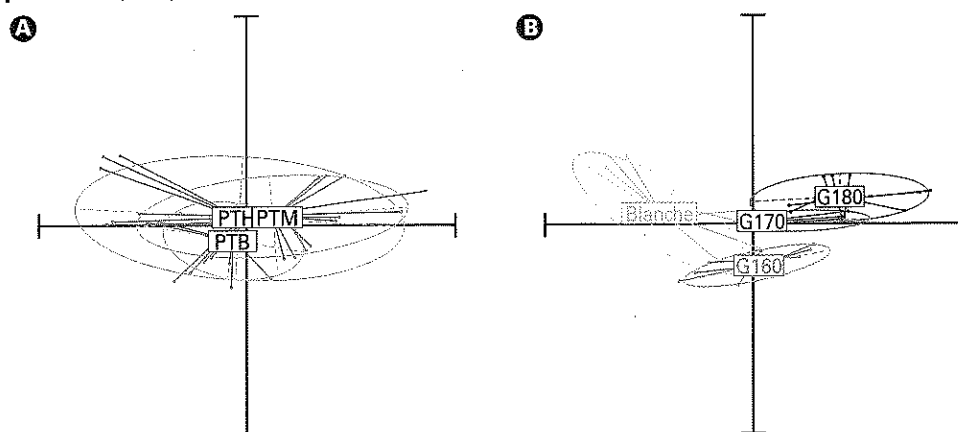
potentiel tannique. Plus précisément, la grandinine et la roburine A, D, E sont relativement plus abondantes dans le PTH, tandis que la vescalagine et la castalagine sont relativement plus importantes dans le PTB. En outre, on observe que le niveau de cuisson impacte le contenu en ellagitanins des extraits, et ce, en relation avec le profil des ellagitanins. En effet, les températures de chauffe les plus élevées (G180) conduisent à une diminution importante des ellagitanins, indépendamment du potentiel tannique du bois. Ces résultats mettent en évidence une composition tannique des bois, qui est dépendante de la chauffe et du PT, ayant donc très certainement un impact sur les qualités sensorielles des vins. Des analyses statistiques multivariées de type analyse en

composante principale (ACP) ont été réalisées à partir de ce jeu de données réduit, ne prenant en considération que les intensités relatives des 8 ellagitanins dans chaque échantillon de bois (*figure 2*). Concernant la distribution des échantillons du point de vue du potentiel tannique (PTH, PTM et PTB), nous observons clairement qu'il n'existe pas de différence statistique entre les trois classes. En effet, les trois ellipses appartenant à chacun des potentiels tanniques sont regroupées. Concernant la distribution du point de vue de la chauffe (blanche, G160, G170 et G180), la situation est un peu différente. En effet, nous observons une tendance de séparation pour les chauffes les plus éloignées en termes d'intensité (blanche et G180) mais avec des ellipses relativement proches les unes des autres et aucune différence significative pour ce qui est des chauffes intermédiaires (G160 et G170). La conclusion majeure que nous pouvons tirer de ces premiers résultats est que la diversité chimique de la matrice bois est telle que les 8 ellagitanins de référence considérés ne suffisent pas pour mettre en évidence des marqueurs propres au potentiel tannique et à la chauffe. C'est pourquoi nous avons envisagé une deuxième approche (non ciblée), avec pour but de considérer l'ensemble du jeu de données de masses obtenu, c'est-à-dire considérer l'entière du métabolome du bois de chêne (ensemble des petites molécules le constituant).

■ **Figure 1: Profils en ellagitanins des extraits, en fonction de la chauffe et du potentiel tannique de bois de chêne.**



■ **Figure 2: Approche supervisée. Analyse en composante principale (ACP). A Distribution des échantillons en fonction du potentiel tannique : composante 1 (72,9 %) et composante 2 (11 %).**
B Distribution des échantillons en fonction de la chauffe : composante 1 (72,9 %) et composante 2 (11 %).

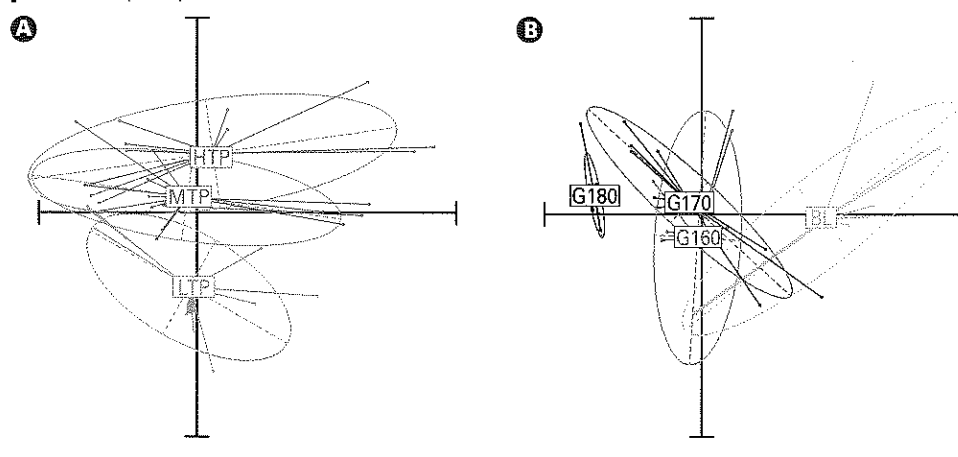


Analyse du contenu global des extraits (approche non-ciblée)

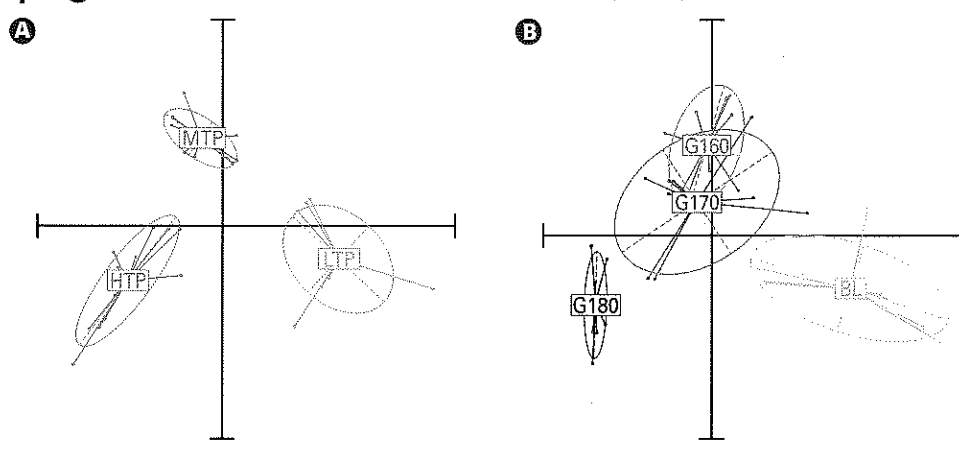
Une démarche similaire à celle précédente a été mise en œuvre mais en prenant cette fois-ci en considération toute la complexité du jeu de données qui correspond à l'ensemble des 2000 composés ionisables détectés par UPLC-QToF-MS dans les extraits. Des analyses en

composantes principales (ACP) ont été effectuées (figure 3). Concernant la distribution des échantillons en fonction du potentiel tannique (PTH, PTM et PTB), nous observons cette fois-ci clairement une séparation des trois potentiels tanniques avec un effet maximal entre le potentiel tannique haut et bas. Concernant la distribution des échantillons en fonction de la chauffe (blanche, G160, G170 et G180), l'allure obtenue est la même que pour l'approche ciblée mais la séparation entre les chaufes extrêmes G180 et blanche est grandement améliorée. Les résultats obtenus apportent ainsi une donnée originale et fondamentale pour la tonnellerie, selon laquelle une classification fine des bois en termes de potentiel tannique ne peut pas reposer sur la seule considération des teneurs en ellagitanins connus, mais nécessite au contraire de considérer une plus grande diversité chimique intrinsèque, c'est à dire issue de tout le métabolome du bois.

■ Figure 3: Approche non supervisée. Analyse en composante principale (ACP). A Distribution des échantillons en fonction du potentiel tannique: composante 1 (19%) et composante 2 (12%). B Distribution des échantillons en fonction de la chauffe: composante 1 (19%) et composante 2 (12%).



■ Figure 4: Classification par PLS-DA. A Distribution des échantillons en fonction du potentiel tannique. B Distribution des échantillons en fonction de la chauffe.



Identification de marqueurs

Afin d'identifier les composés responsables de ces différences statistiques entre les potentiels tanniques et les chaufes, des analyses multivariées de type « méthode de régression des moindres carrés partiels » (PLS-DA) ont permis une optimisation des groupes préalablement discriminés par analyse en composante principale (figure 4). Le croisement de ces méthodes statistiques permettent d'accentuer la séparation entre des classes d'échantillons définies

(potentiel tannique et chauffe) et d'avoir une idée précise quant à la robustesse du ou des modèle(s) étudié(s). À ce jour, 35 marqueurs propres au potentiel tannique ont ainsi été identifiés (formules élémentaires).

Conclusions

Nous avons montré que si l'analyse ciblée moléculaire des ellagitanins sur des extraits de bois chauffés est en relative adéquation avec la classification des

douelles par IR, l'analyse non ciblée du profil métabolomique global permet une discrimination plus fine des bois en fonction de leur potentiel tannique, et cela indépendamment de la chauffe. De la même manière, il est possible de classer les bois en fonction de la chauffe, indépendamment du potentiel tannique. Des marqueurs moléculaires responsables de ces classifications ont ainsi été identifiés. Ces composés pourront constituer le socle d'une classification encore plus fine des douelles permettant d'optimiser l'homogénéité et la reproductibilité des fûts.

Remerciements: Ce travail a été soutenu financièrement par le conseil régional de Bourgogne Franche-Comté, et le Fonds européen de développement régional (FEDER).

NDLR: Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur simple demande auprès de la Revue des Œnologues.
 - Par courrier: joindre une enveloppe affranchie, avec les références de l'article
 - Sur internet: search.oeno.tm.fr

JEAN-PAUL GAUD SA
 BOUCHONS - CAPSULES - CAPSULES A VIS

Rue Antoine-Jolivet 7 - CP 1212 - 1211 Genève 26
 Tél. +41 (0) 22 343 79 42 - Fax +41 (0) 22 343 63 23
gaudbouchon@bluewin.ch - www.gaud-bouchons.com

