

La sucrosité des vins secs : de l'interprétation moléculaire aux applications pratiques

CONTACTS :

Delphine Winstel¹ et Axel Marchal²

¹ Post doctorante à l'ISVV de Bordeaux - delphine.winstel@u-bordeaux.fr

² Professeur des universités en œnologie à l'Université de Bordeaux - axel.marchal@u-bordeaux.fr

Le vin est une matrice complexe, constituée de plusieurs dizaines de milliers de composés dont une faible part seulement est connue. Certains d'entre eux possèdent des propriétés organoleptiques et sont susceptibles de contribuer aux différentes saveurs du vin. La composante moelleuse joue un rôle majeur dans les équilibres gustatifs des vins secs, en atténuant leur acidité et leur amertume. Les vins doux, dont le goût sucré est dû au glucose et au fructose du raisin, non transformés par les levures, se distinguent des vins secs. Ces derniers présentent un caractère moelleux qui ne peut être attribué aux oses, dont les teneurs sont inférieures à leur seuil de détection. Le terme de « sucrosité » sans sucre est alors employé. Les déterminants moléculaires associés à ce goût n'ont été que partiellement élucidés. La recherche de tels effecteurs du goût a dans un premier temps été guidée par des observations empiriques. En effet, selon certains vinificateurs, deux facteurs pourraient concourir au gain de sucrosité des vins secs : la macération post-fermentaire des vins rouges et l'élevage sous bois de chêne. En outre, des variations du caractère moelleux sont fréquemment observées en fonction des cépages, des terroirs et des millésimes. Les travaux réalisés au laboratoire se sont inspirés de ces observations pour tenter de mieux connaître les origines moléculaires de la saveur sucrée des vins secs.

Contribution des lies de levures à la saveur sucrée des vins secs

La plupart des boissons fermentées, et en particulier le vin, subissent une période de contact avec les lies de levures à la fin du processus fermentaire. Les lies sont constituées de microorganismes (essentiellement les levures de fermentation alcoolique) ainsi que de résidus organiques provenant du raisin. Au cours de l'élaboration des vins, la présence des lies de levures conduit à diverses modifications physico-chimiques, aromatiques et gustatives. L'augmentation de la saveur sucrée au cours de l'élevage sur lies des vins blancs, pourtant bien observée dans les caves, ne pouvait être reliée à aucune connaissance chimique. Le même phénomène d'édulcoration est observé lors de la macération post-fermentaire à chaud des vins rouges. Or, ces deux phases coïncident, pour chaque type de vinification, avec l'autolyse des levures. Ce processus post-fermentaire correspond à la destruction des enveloppes de la levure sous l'effet d'enzymes endogènes (Babayan *et al.*, 1981). Cela entraîne la solubilisation de substances cellulaires, et en particulier de polysaccharides, de nucléotides, de protéines et de peptides. La présence, parmi les produits d'autolyse de la levure, de molécules à saveur sucrée permettrait d'interpréter les observations des vinifi-

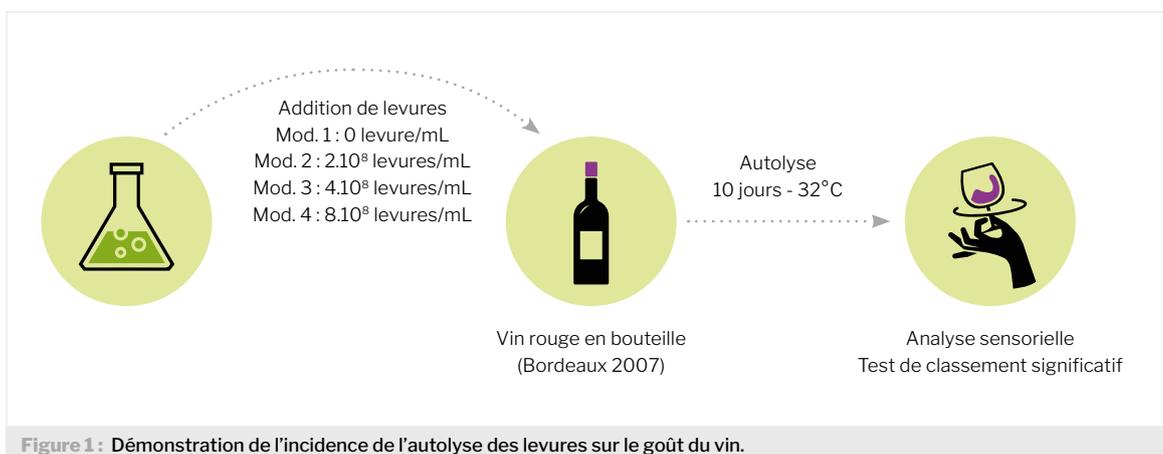


Figure 1 : Démonstration de l'incidence de l'autolyse des levures sur le goût du vin.

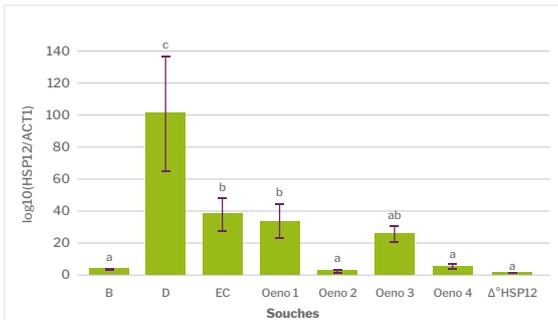


Figure 2 : Expression du gène Hsp12 en fonction de la souche de levures (les lettres au-dessus des barres d'erreurs correspondent aux groupes statistiquement distincts).

cateurs. Dans un premier temps, l'incidence de l'autolyse des levures sur le goût des vins a été étudiée à partir d'un vin rouge, dans lequel des levures ont été ajoutées à différentes teneurs (de 0 à 8.108 cellules/mL). Après dix jours à 32 °C, afin de simuler les conditions d'une macération post-fermentaire à chaud, les modalités obtenues ont été soumises à un panel de dégustateurs afin d'être classées en fonction de l'intensité de la saveur sucrée (Figure 1). Les résultats ont montré que la sucrosité des vins augmentait avec la quantité de levures présentes pendant l'autolyse, confirmant ainsi les observations des praticiens (Marchal *et al.*, 2011).

Une approche mêlant analyse sensorielle et biologie moléculaire a été mise en œuvre pour rechercher des composés impliqués dans ce phénomène. Nous avons montré qu'une protéine de levure appelée Hsp12 contribue de manière significative à l'augmentation de la douceur pendant l'autolyse (Marchal *et al.*, 2011).

Saccharomyces cerevisiae est une espèce présentant un important polymorphisme génétique. Cela se traduit par des souches aux aptitudes fermentaires très variées, capables de retranscrire avec la plus grande fidélité les nuances de composition du raisin comme de masquer son origine en synthétisant des composés banalisants appelés défauts. Ainsi, les facteurs génétiques jouent souvent un rôle majeur dans l'impact organoleptique de la fermentation alcoolique. Nous avons comparé l'expression de *Hsp12* à mi fermenta-

tion pour huit souches de *Saccharomyces cerevisiae* : 4 souches œnologiques commerciales, la souche Δ°Hsp12, qui diffère de la souche Fx10 uniquement par l'absence du gène *Hsp12*, et 3 souches issues d'autres biotopes (brasserie B, distillerie D et exsudats de chêne EC). La Figure 2 montre qu'il existe une forte variabilité de l'expression de *Hsp12* entre les différentes souches de *Saccharomyces cerevisiae*. Si les deux souches présentant les plus forts niveaux d'expression ne sont pas œnologiques, l'application d'un test de Duncan permet d'observer des différences significatives entre des souches de vinification.

En complément de ces mesures d'expression, un vin ne contenant pas la protéine Hsp12 a été obtenu par fermentation d'un moût de Merlot issu de thermovinification avec la souche Δ°Hsp12. Après autolyse, les différentes modalités ont été centrifugées et dégustées par un panel de dégustateurs entraînés. Une analyse de variance a révélé un fort effet « souche », c'est-à-dire que les dégustateurs ont perçu des variations nettes de sucrosité en fonction de la souche de levures utilisée pour l'autolyse (Marchal, Marullo, *et al.*, 2015). Ces résultats démontrent que le goût du vin est affecté par l'autolyse et que la souche de levure peut moduler l'intensité de la sucrosité grâce à la protéine Hsp12.

Contribution des parties solides du raisin à la saveur sucrée des vins secs

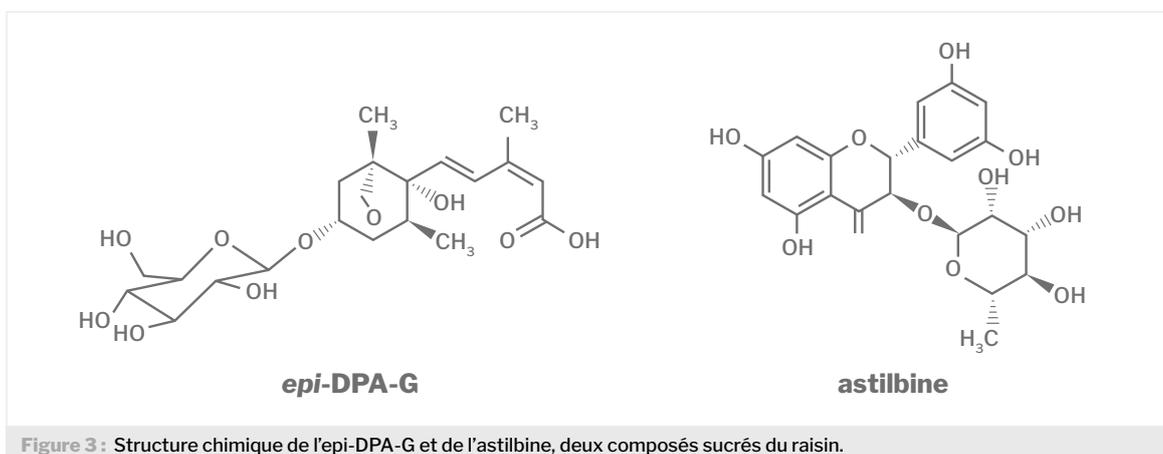
Les variations de sucrosité observées en fonction des cépages et des terroirs suggeraient l'existence, dans les vins secs, de molécules à saveur sucrée provenant du raisin. Pour la plupart des vins rouges, l'extraction a d'abord lieu en phase fermentaire par macération des raisins dans le jus. Le lessivage du chapeau favorise alors la dissolution des constituants de la pellicule, du pépin et, dans certains types de vinification, de la rafle. Avec l'achèvement de la fermentation alcoolique, l'action humaine se fait plus discrète voire inexistante. Après inertage des cuves avec du dioxyde de carbone pour éviter la prolifération de microorganismes aérobies d'altération, le vin est fréquemment laissé au contact du marc sans autre intervention ; c'est la macération post-fermentaire. Au cours de cette phase

d'infusion, la température du vin est généralement augmentée et l'on parle ainsi de macération post-fermentaire à chaud (MPFC), favorisant l'autolyse des levures décrite précédemment. Cette phase de cuvaison semble jouer un rôle organoleptique majeur en conférant davantage de structure, de densité et de douceur au vin. Afin d'évaluer les conséquences sensorielles de la macération post-fermentaire à chaud (MPFC), des expérimentations ont été mises en place dans trois propriétés bordelaises. Chaque parcelle a été vendangée et vinifiée selon un protocole classique, en cuve inox de 120 hL. La fermentation alcoolique a été réalisée par la souche de *Saccharomyces cerevisiae* F33 (Laffort œnologie) à une température de 26 °C (dans le jus). Pour chaque cuve, un premier écoulage a été réalisé directement à la fin de la fermentation, dans une barrique ayant contenu préalablement deux récoltes (« barrique de 2 ans »), conduisant à la modalité FA. Ensuite, les cuves ont été inertées au CO₂ et maintenues à 30 °C pour réaliser la MPFC pendant 10 jours. À l'issue de cette étape, un second écoulage a été réalisé dans une barrique ayant contenu préalablement deux récoltes, conduisant à la modalité MPF. Les vins des modalités FA et MPF ont subi la fermentation malo-lactique (FML) en barriques. Les échantillons utilisés dans cette étude ont été prélevés dans les barriques après six mois d'élevage. Des analyses œnologiques élémentaires (TAV, pH, acidité totale, acidité volatile, IPT) n'ont pas montré de différences significatives entre les modalités FA et MPF de chaque lot. Les échantillons ont été

soumis à un panel de 30 dégustateurs, sous forme de test triangulaire.

Pour les vins réalisés au cours de ces expérimentations, les dégustateurs ont pu distinguer les modalités FA et MPF. En outre, les vins de la modalité MPF ont été perçus comme significativement plus sucrés et moins astringents que la modalité FA. Or, comme démontré précédemment, l'autolyse des levures, concomitante à la MPFC, entraîne la libération de composés sucrés. Il est ainsi possible que les modifications gustatives perçues lors de la macération post-fermentaire résultent uniquement des mécanismes biochimiques liés à l'autolyse plutôt que de la diffusion de constituants des parties solides du raisin. Il convient de distinguer ces deux phénomènes pour évaluer leur contribution respective. Dans cette expérimentation, la modalité MPF a en effet bénéficié de ces deux contributions, contre aucune pour la modalité FA.

Précédemment, nous avons vu qu'il était possible d'effectuer l'autolyse dans un vin rouge enrichi en levures et conservé pendant 10 jours à 32 °C. Ce protocole a été appliqué à la modalité FA pour obtenir la modalité FA+L. Par rapport à la modalité FA, elle a bénéficié de la libération de peptides de levure et par rapport à la modalité MPF, elle n'a pas été au contact du marc de raisin pendant la MPFC. L'écart significatif entre les modalités FA et FA+L, décrit précédemment, a permis de démontrer la contribution édulcorante des





lies de levures. Ici, un test triangulaire suivi d'un profil sensoriel a révélé que des différences de goût étaient perçues entre les modalités FA+L et MPF, avec plus de douceur pour cette dernière. Ce résultat démontre que le gain de sucrosité observé pendant la macération post-fermentaire ne résulte pas uniquement de l'autolyse des levures mais également du contact du vin avec le marc de raisin. Ceci établit la présence dans les vins secs de composés sucrés provenant du raisin. Pour rechercher de tels composés, une stratégie de purification guidée par le goût a été mise en œuvre et deux molécules sucrées ont été identifiées : l'épi-DPA-G et l'astilbine (Figure 3) (Cretin *et al.*, 2019). Leur concentration dans le vin est affectée par divers paramètres de vinification et notamment la présence de rafles (Fayad *et al.*, 2020, 2021).

Contribution de l'élevage sous bois de chêne à la saveur sucrée des vins secs

L'élevage en barriques est une étape clé de l'élaboration des vins, modifiant leur expression aromatique comme leur saveur. Empiriquement, des observations des vinificateurs ont suggéré une augmentation de la sucrosité des vins lors de l'élevage en barriques. Des expérimentations ont permis de démontrer que ce gain de saveur n'était pas lié à des composés volatils, suggérant l'existence de molécules non-volatiles sucrées dans le bois de chêne (Marchal *et al.*, 2013). La présente étude visait à identifier de tels composés. À

cette fin, une nouvelle démarche inductive a été mise en place. Elle implique dans un premier temps une étape d'extraction suivie du développement d'un protocole de fractionnement d'extraits de bois de chêne. À l'issue de chaque étape de séparation, les différentes fractions obtenues sont dégustées. Celles présentant la plus grande intensité du caractère sucré ciblé sont conservées pour la poursuite du fractionnement. La Chromatographie de Partage Centrifuge (CPC) et la Chromatographie Liquide Haute Performance à l'échelle préparative (HPLC-Prep) ont été utilisées afin de purifier des composés. L'élucidation structurale des molécules pures a été conjointement effectuée par LC-HRMS et par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). Deux triterpénoïdes de type oléanane substitués par des fragments galloyle et glucosyle ont été identifiés, tous deux présentant un goût sucré. Nous appelons ces composés, qui n'avaient jamais été mentionnés dans la littérature, Quercotriterpénoside I et II (QTT I et QTT II, respectivement) (Figure 4).

Cette famille chimique avait été peu étudiée en tonnelerie, à l'exception des travaux de Arramon décrivant l'acide bartogénique, l'acide 23-hydroxybartogénique ainsi que leurs dérivés mono-glucosylés (Glu-AB I et Glu-HAB I) dans des extraits de bois de chêne, des vins et des eaux-de-vie élevées sous bois (Arramon *et al.*, 2002). Les voies de biosynthèse chez les plantes induisent généralement une diversité structurale, sous

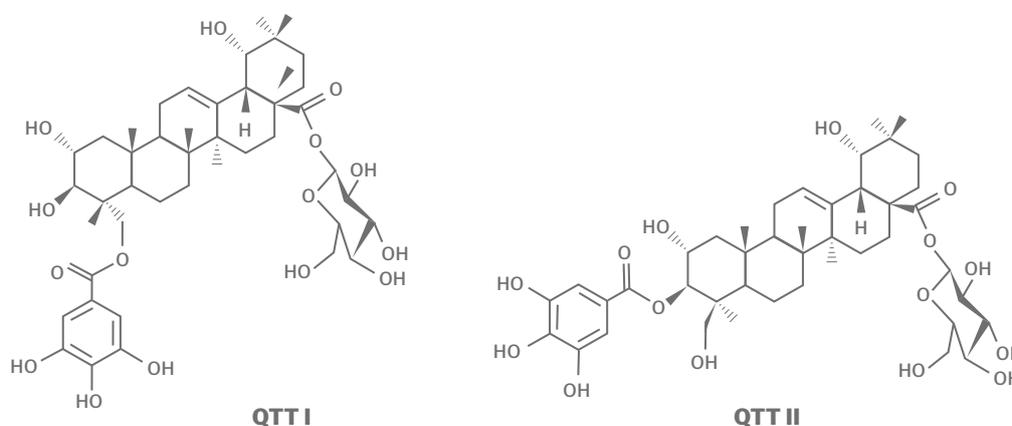


Figure 4 : Structure chimique du QTT I et QTT II.

forme d'isomères ou de dérivés. Or, des molécules de structures proches peuvent présenter des propriétés gustatives similaires. Des analogues structuraux aux QTT I et II, dérivés de la même génine (arjungénine) ont donc été recherchés dans les extraits de bois de chêne par LC-HRMS. De nombreux nouveaux composés ont été identifiés, dont la plupart ont été décrits comme sucrés (Gammacurta *et al.*, 2019; Marchal, Génin, *et al.*, 2015). Hormis ces composés sucrés, des triterpénoïdes amers ont également été isolés à partir du bois de chêne. Parmi eux, le Glu-AB identifié par Arramon *et al.* (2002) est particulièrement abondant (Arramon *et al.*, 2002).

Deux espèces de chêne européen sont utilisées pour la fabrication des barriques : le chêne sessile et le chêne pédonculé (*Quercus petraea* et *Quercus robur*). Des travaux antérieurs ont montré que l'origine botanique jouait un rôle prépondérant sur la composition du bois en composés non-volatils (Prida *et al.*, 2006). Afin d'étudier l'influence de l'espèce de chêne sur la concentration en QTT I, II, III et Glu-AB du bois, 46 échantillons ont été prélevés dans 8 forêts françaises (Tronçais, Lateyron, Châteauroux, Liffré, Xures, Saint-Clément, Spincourt et Pierroton). Pour chaque origine géographique, des échantillons ont été affectés aux deux espèces (27 de chêne sessile, 19 de chêne pédonculé). Ils ont été analysés par LC-HRMS pour quantifier les triterpènes. Les teneurs moyennes en QTT I, II et III étaient plus élevées dans les échantillons de chêne sessile que dans ceux de chêne pédonculé. 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. Ces résultats ont établi l'influence notable de l'espèce de chêne sur la présence en composés triterpéniques et suggéré 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).

Pour permettre une identification à coup sûr de l'origine botanique d'un échantillon de bois, un indice

triterpénique a été proposé et défini de la façon suivante :

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

où [QTT I], [QTT II], [QTT III] et [Glu-AB] correspondent respectivement aux concentrations des Quercotriterpénosides I, II et III ainsi que la concentration de l'acide bartogénique dans ces extraits de bois.

Si, IT est supérieur à 0,5, alors l'extrait provient du chêne sessile

IT est inférieur à - 0,5, alors l'extrait provient du chêne pédonculé.

La mesure de l'IT dans le bois apparaît 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 Etats-Unis, exploité par la tonnellerie Seguin-Moreau.

Références :

- ➔ Arramon, G., Saucier, C., Colombani, D., & Glories, Y. (2002). Identification of triterpene saponins in *Quercus robur* L. and *Q. petraea* Liebl. *Heartwood by LC-ESI/MS and NMR. Phytochemical Analysis*, 13(6), 305–310.
- ➔ Babayan, T. L., Bezrukov, M. G., Latov, V. K., Belikov, V. M., Belavtseva, E. M., & Titova, E. F. (1981). Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: Morphological effects, rheological effects, and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. *Current Microbiology*, 5(3), 163–168.
- ➔ Cretin, B. N., Waffo-Teguo, P., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2019). Taste-guided isolation of sweet-tasting compounds from grape seeds, structural elucidation and identification in wines. *Food Chemistry*, 272, 388–395.
- ➔ Fayad, S., Cretin, B. N., & Marchal, A. (2020). Development and validation of an LC-FTMS method for quantifying natural sweeteners in wine. *Food Chemistry*, 311, 125881.
- ➔ Fayad, S., Le Scanff, M., Waffo-Teguo, P., &



- Marchal, A. (2021). Understanding sweetness of dry wines: First evidence of astilbin isomers in red wines and quantitation in a one-century range of vintages. *Food Chemistry*, 352, 129293.
- ➔ Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Cretin, B. N., Sindt, L., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2019). Triterpenoids from *Quercus petraea*: Identification in Wines and Spirits and Sensory Assessment. *Journal of Natural Products*, 82(2), 265–275.
 - ➔ Marchal, A., Génin, E., Waffo-Téguo, P., Bibès, A., Da Costa, G., Mérillon, J.-M., & Dubourdieu, D. (2015). Development of an analytical methodology using Fourier transform mass spectrometry to discover new structural analogs of wine natural sweeteners. *Analytica Chimica Acta*, 853, 425–434.
 - ➔ Marchal, A., Marullo, P., Durand, C., Moine, V., & Dubourdieu, D. (2015). Fermentative Conditions Modulating Sweetness in Dry Wines: Genetics and Environmental Factors Influencing the Expression Level of the *Saccharomyces cerevisiae* Hsp12 Gene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(1), 304–311.
 - ➔ Marchal, A., Marullo, P., Moine, V., & Dubourdieu, D. (2011). Influence of Yeast Macromolecules on Sweetness in Dry Wines: Role of the *Saccharomyces cerevisiae* Protein Hsp12. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 2004–2010.
 - ➔ Marchal, A., Pons, A., Lavigne, V., & Dubourdieu, D. (2013). Contribution of oak wood ageing to the sweet perception of dry wines: Effect of oak ageing on wine sweetness. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(1), 11–19.
 - ➔ Prida, A., Boulet, J.-C., Ducouso, A., Nepveu, G., & Puech, J.-L. (2006). Effect of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even-aged and mixed stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl. *Annals of Forest Science*, 63(4), 415–424.