

Grand Prix Sciences & Recherche 2025

Tom ESTIER

Recherches sur les déterminants
moléculaires de l'amertume
dans les vins blancs secs et moelleux
– Interprétations moléculaires et
applications pratiques

PRÉFACE

L'Académie Amorim est née, au début des années 90, d'une volonté des grands noms de l'œnologie de promouvoir leur discipline, leurs recherches, l'excellence des travaux conduits par leurs étudiants, en créant un concours scientifique international. Le groupe Amorim a immédiatement répondu à leur appel.

Contribuer à une meilleure connaissance du vin et de son environnement, tel était l'objectif poursuivi par ces passionnés, bientôt rejoints par leurs confrères universitaires, journalistes, artistes, juristes, économistes, tous animés par cette même passion.

Aujourd'hui, Jacques Puisais, Président-fondateur de l'Académie Amorim, nous a quitté. Tout comme Robert Tinlot, ancien directeur général de l'OIV, qui lui avait succédé à la présidence de notre institution avec talent. Et il en fallait pour donner un deuxième souffle à cette Académie et l'ouvrir sur l'économie, les marchés, le juridique, l'environnement... autant de disciplines indissociables du monde viti-vinicole, autant de sujets dont Jean-Marie Aurand s'est emparé avec enthousiasme en succédant à ses illustres prédécesseurs.

La modeste contribution du bouchon de liège, fleuron de l'activité du groupe Amorim, a été d'initier, de soutenir et promouvoir ce concours international visant à récompenser les travaux de jeunes chercheurs en œnologie et en sciences humaines dans le domaine du vin.

Cette collection, dédiée aux Lauréats du Grand Prix Sciences & Recherche de l'Académie Amorim, est devenue, au fil des ans, une référence et la mémoire vivante des efforts et des travaux engagés dans le monde entier pour servir la noble cause du Vin. Je ne peux que souhaiter la voir poursuivre dans la voie de l'excellence qu'elle s'est tracée durant ces dernières décades.

Antonio Rios de Amorim

Président directeur général Corticeira Amorim
Vice-Président de l'Académie Amorim

ÉDITO

Équilibre et harmonie sont les caractéristiques des grands vins. Ni l'alcool, ni l'acidité, ni le sucré, ni l'umami, ni l'amertume ne sont des défauts ou des vertus en soi : Ils sont tous nécessaires dans une certaine mesure mais l'excès de l'un ou de l'autre peut être préjudiciable aux qualités gustatives d'un vin.

Dans sa thèse, Tom Estier s'intéresse à l'identification de nouveaux déterminants moléculaires de l'amertume dans les vins blancs secs et liquoreux. En effet, certains vins blancs présentent une amertume marquée, indépendamment du cépage, de la région de production ou de l'itinéraire technique.

Son objectif était donc de mieux comprendre les marqueurs associés à l'apparition ou au développement de l'amertume dans les vins blancs, puis de tisser le lien entre interprétations moléculaires et applications pratiques.

La finalité des recherches menées par Tom Estier est en effet de fournir aux vinificateurs des leviers concrets pour mieux maîtriser cette saveur et ainsi l'équilibre gustatif de leurs vins.

Après avoir dressé un état des lieux des connaissances actuelles concernant l'amertume des vins blancs et examiné l'influence d'un ensemble de marqueurs déjà identifiés, des différences sensorielles liées à l'amertume ont été mises en évidence, tout en restant largement inexpliquées.

Afin d'y remédier un deuxième axe de l'étude a été consacré à la recherche de nouveaux marqueurs de l'amertume, à travers la mise en place d'un protocole de purification guidée par gustatométrie. Plusieurs molécules amères ont ainsi été mises à jour.

Enfin, un dernier axe a porté sur le développement de nouvelles stratégies de priorisation de molécules potentiellement pertinentes à purifier, s'appuyant sur l'analyse métabolomique non ciblée par LC-HRMS. L'application de cette approche à un large échantillonnage de vins blancs caractérisés au niveau sensoriel a permis d'isoler quatre dipeptides amers, dont deux ont été décrits pour la première fois dans le vin.

Les travaux de thèse de Tom Estier offrent une avancée significative des connaissances sur les familles chimiques impliquées dans l'apparition de l'amertume dans les vins blancs secs et liquoreux et ouvrent la voie à des investigations plus ciblées sur les molécules les plus prometteuses.

Les membres de l'Académie Amorim ont apprécié la rigueur scientifique des travaux de Tom Estier et ont été particulièrement sensibles à l'effort de continuité entre recherche fondamentale, recherche appliquée et solutions opérationnelles.

Jean-Marie Aurand

Président de l'Académie Amorim

Recherches sur les déterminants moléculaires de l'amertume dans les vins blancs secs et moelleux *Interprétations moléculaires et applications pratiques*

Tom Estier

Thèse pour le Doctorat en Œnologie de l'Université de Bordeaux
Soutenue publiquement le 12 décembre 2024.

Directeur de thèse :

Monsieur Axel Marchal

Professeur de l'Université de Bordeaux

Membres du Jury :

Monsieur Mehdi Beniddir,

Professeur de l'Université Paris-Saclay
(Président)

Madame Séverine Derbré,

Professeure de l'Université d'Angers
(Rapporteur)

Monsieur Sylvain Guyot,

Directeur de Recherche de l'INRAE Rennes
(Rapporteur)

Monsieur Éric Frérot,

Distinguished Scientist de DSM-Firmenich, Genève
(Examineur)

Monsieur Stéphane Quideau,

Professeur de l'Université de Bordeaux
(Examineur)

Monsieur Philippe Darriet,

Professeur de l'Université de Bordeaux
(Membre invité)

1 - INTRODUCTION

Guillaume Apollinaire disait boire l'univers dans son verre de vin. Cette phrase traduit bien toute la complexité de cette boisson qui, de la vigne à la dégustation, concilie nature et culture, s'inscrit dans le temps, convoque la mémoire et la patience, et interroge les sens en éveillant la sensibilité. Tous ces éléments expliquent la fascination qu'exerce le vin depuis des années sur l'amateur éveillé, chez qui la dégustation provoque une multitude de sensations olfactives, gustatives, tactiles et visuelles, qui, lorsqu'elles sont harmonieusement équilibrées, confèrent plaisir et émotions.

La perception de ces différentes sensations est intrinsèquement liée à la composition chimique du vin. Les différentes molécules qui le composent interagissent avec les récepteurs sensoriels du dégustateur et provoquent des stimulations physiologiques se traduisant dans le cerveau par des goûts, des arômes et des textures. La compréhension de la nature chimique des différents effecteurs de ses sensations permet de consolider les connaissances fondamentales sur le sujet, puis de tisser le lien entre interprétation moléculaire et applications pratiques pour le vigneron et le vinificateur.

La caractérisation des composés du vin fait l'objet de nombreux travaux de recherche et couvre un large champ d'études puisque les molécules qui le constituent ont de multiples origines. Tout d'abord, l'origine végétale, modulée par la plante, le sol, le climat et les pratiques viticoles, confère un premier niveau de complexité. L'implication de différents micro-organismes durant les processus fermentaires renforce cette complexité par la synthèse de nouveaux composés ou la transformation de marqueurs du raisin. Enfin, l'évolution chimique du vin durant son vieillissement, en cuve, en fût puis en bouteille, est le siège de nombreuses réactions parachevant cet édifice, dont la subtilité des propriétés sensorielles est étroitement liée à sa richesse moléculaire. Parmi cet ensemble d'objets chimiques, de nombreux composés volatils sont responsables des arômes du vin (Ribéreau-Gayon et al., 2017). La matrice non-volatile constitue l'origine moléculaire des perceptions gustatives. Différents composés acides (Ribéreau-Gayon et al., 2017), sucrés (Marchal et al., 2011 ; Cretin et al., 2019 ; Gammacurta et al., 2019 ; Le Scannff et al., 2024) et amers (Marchal et al., 2015 ; Winstel et al., 2020) ont déjà été identifiés dans cette matrice.

D'après l'œnologue Émile Peynaud, l'équilibre gustatif des vins blancs s'articule principalement autour des saveurs élémentaires sucrée et acide (Peynaud, 1980). Cependant, certains vins sont également marqués par une saveur amère qui contribue à cet équilibre ou le déprécie. De nombreux auteurs spécialistes de la dégustation s'accordent en effet sur l'incidence négative d'une amertume trop prononcée dans les vins blancs (Harding et Robinson, 1994 ; Jackson, 2002 ; Peynaud, 1980). Un tel déséquilibre peut être perçu dans tous les vins blancs, sans distinction de types, de cépages ou de régions, et apparaître à tous les moments de la vinification ou du vieillissement des vins. Empiriquement, certains vins ont cependant été identifiés par les vinificateurs et les dégustateurs comme des exemples récurrents. En effet, l'évolution oxydative des vins blancs semble notamment être favorable au développement de la saveur amère. Les vieux échantillons de vins liquoreux sont également marqués par une sucrosité moins importante, bien que leur teneur en sucres soit stable, suggérant la présence d'une amertume masquante. En outre, certaines pratiques de vinification sont souvent associées à la gestion de l'amertume dans les vins blancs. Le pressurage des raisins à fortes pressions conduit généralement à des vins amers à l'instar de ceux obtenus à partir de moûts mal clarifiés. A l'inverse, certains traitements de collage du vin sont notablement utilisés pour en diminuer la saveur amère.

La compréhension moléculaire de ces observations empiriques demeure incomplète. Ce travail de recherche vise à y contribuer en identifiant les molécules responsables de l'apparition de l'amertume dans les vins blancs secs et liquoreux et en étudiant l'effet de différents paramètres viticoles et œnologiques sur l'expression de cette saveur.

I. ÉTUDE DE LA CONTRIBUTION DES COMPOSÉS AMERS CONNUS AU GOÛT DES VINS BLANCS.

1. Quantification d'une sélection de composés amers dans les vins blancs secs et incidence gustative.

Le premier axe de ce travail a consisté à établir un état des lieux des connaissances actuelles concernant l'amertume des vins blancs, en examinant l'influence d'une sélection des principales molécules amères connues. Il a tout d'abord fallu déterminer clairement les différents niveaux d'amertume qui peuvent être perçus dans ces vins. Un panel de dégustation a donc été entraîné afin d'assurer la qualité et la répétabilité des analyses sensorielles. Quarante-deux vins blancs commerciaux de cépages et origines variés lui ont ensuite été soumis afin d'en évaluer les niveaux d'amertume (Figure 1).

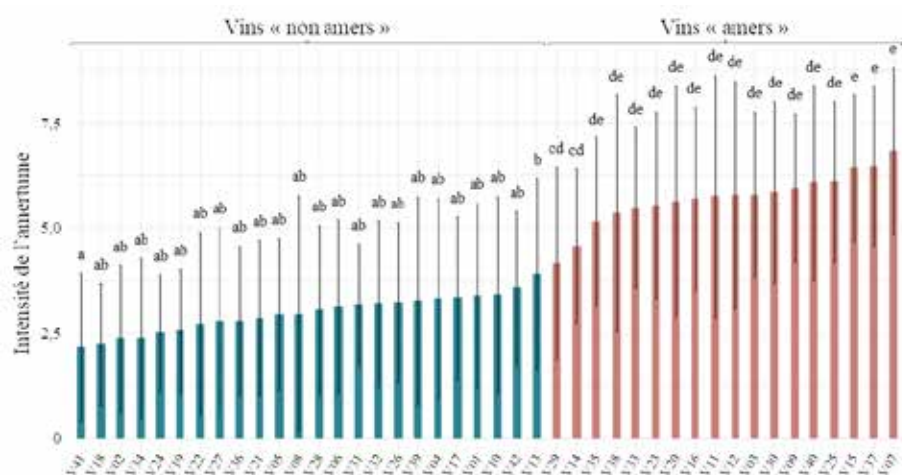


Figure 1 : Analyse sensorielle des 42 vins blancs commerciaux : notes moyennes d'intensité de l'amertume (test post hoc de comparaison multiple). Les barres d'erreur correspondent aux écart-types de la notation de l'amertume.

Ces premiers résultats ont permis de mettre en évidence des différences sensorielles liées à l'amertume entre les vins blancs secs.

Cinq méthodes de quantification par LC-HRMS et LC-UV ont été développées afin de quantifier les teneurs en une sélection de 27 composés amers dans des moûts de raisin et des vins blancs, secs et liquoreux. Cette sélection couvre une grande gamme de molécules amères d'origines diverses et de familles chimiques variées (flavonols, acides phénols, esters éthyliques d'acides phénols, acides aminés, alcools supérieurs), précédemment décrites dans ces types de vin. Les concentrations de ces composés ont été mesurées dans les vins blancs évalués par le panel de dégustation, et seuls le tyrosol et l'acide gallique ont été parfois mesurés à des concentrations supérieures aux seuils de détection gustative décrits dans la littérature. L'actualisation du seuil de détection du tyrosol dans une matrice proche de celle du vin a cependant démontré que son incidence individuelle sur le goût du vin semblait limitée. En outre, aucune corrélation positive n'a pu être établie entre l'ensemble des données sensorielles et les concentrations des différents composés quantifiés.

La contribution directe et individuelle des composés sélectionnés à l'amertume des vins blancs semble limitée.

En revanche, la dégustation de différents vins blancs supplémentés par l'ensemble de ces composés à plusieurs niveaux de concentrations infraliminaires a révélé que la somme des composés semblait contribuer à l'amertume des vins blancs par le biais de mécanismes d'interactions perceptives (Figure 2).

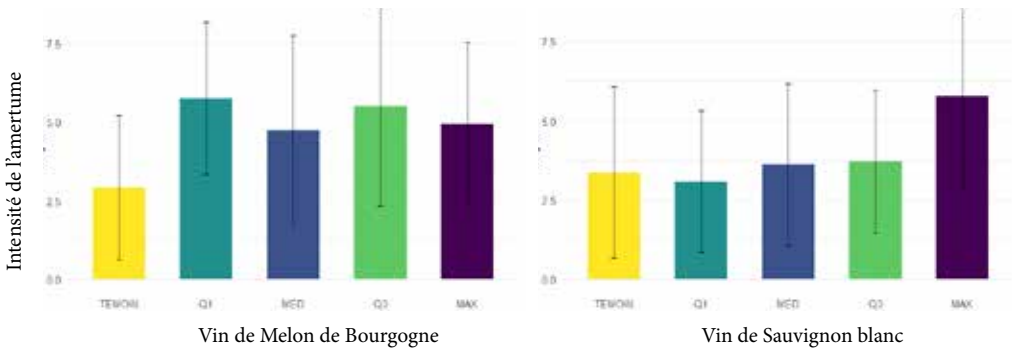


Figure 2 : Intensité des notes amères données pour les différentes modalités Q1, Med, Q3 et Max de vins supplémentés en composés amers et de la modalité témoin non supplémentée (test de Wilcoxon apparié).

Il semble que les composés amers déjà connus qui ont été étudiés puissent contribuer à l'amertume des vins blancs de manière collective, à des niveaux infraliminaires, par le biais d'interactions perceptives.

Il est donc important pour les vinificateurs de contrôler le niveau d'ensemble des composés amers pour limiter l'apparition de cette saveur dans leurs vins.

2. Influence de paramètres viticoles et œnologiques sur la composition en composés amers des vins blancs.

Les marqueurs amers connus sélectionnés ont ensuite été quantifiés dans le cadre de différentes expérimentations viticoles et œnologiques, afin de cibler les étapes clés concernant la gestion de l'amertume dans les vins blancs. Bien que les teneurs mesurées aient toujours été inférieures aux seuils de détection décrits dans la littérature, comprendre les paramètres qui influencent leur formation et leur dégradation permet d'en contrôler les concentrations pour limiter le niveau global de molécules amères dans les vins.

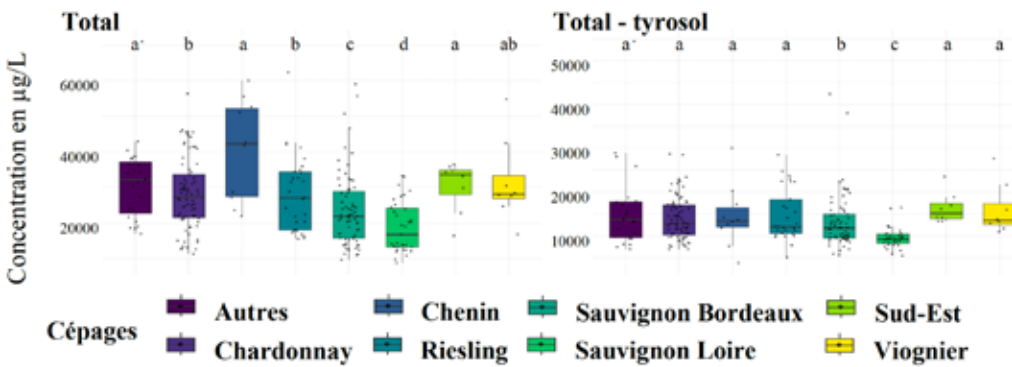


Figure 3 : « Box plots » de la somme des concentrations en composés amers avec (gauche) et sans le tyrosol (droite) selon les cépages des vins secs étudiés (test post hoc de comparaison multiple).

Il existe une grande variabilité liée au matériel végétal, notamment au cépage, qui se traduit par des teneurs très variables en composés amers (Figure 3). Il convient de noter que le tyrosol constitue à lui seul près de 50% des teneurs en composés amers et peut parfois exacerber les différences observées, il est intéressant de l'étudier séparément. Le niveau de maturité du raisin, souvent corrélé à des millésimes chauds et secs, conduit également à des vins plus riches en marqueurs amers. La même diversité est observée dans les vins liquoreux de différents cépages, régions et modes de production. Les mécanismes biochimiques et de concentration spécifiques des raisins destinés à ce type de vin conduisent néanmoins à des teneurs globales plus importantes que celles observées dans les vins blancs secs.

L'effet du cépage traduit une variabilité importante des teneurs en composés amers selon la variété et la maturité du raisin. Ces teneurs sont corrélées au niveau de maturité du raisin et aux mécanismes de maturation spécifiques des raisins destinés aux vins liquoreux.

Concernant les procédés de vinification, la baisse de qualité organoleptique des moûts de raisin observée en fin de pressurage, et souvent repérée par une baisse de l'acidité, est également corrélée aux teneurs globales en composés amers. En outre, le pressurage de type champenois, constitué de cycles de montée en pression successifs, semble conduire à des moûts moins riches en molécules amères (Figure 4A). La clarification des moûts semble influencer les teneurs en composés amers liés aux métabolismes azotés de la levure. La formation d'alcools supérieurs amers comme le tyrosol et le tryptophol à partir des acides aminés correspondants, la tyrosine et le tryptophane, est favorisée dans les moûts de turbidité élevée, ce qui peut expliquer en partie l'amertume des vins issus de moûts mal clarifiés souvent décrite par les vinificateurs. Enfin, les procédés de traitement par collage, notamment à la PVPP, réduisent significativement les teneurs en composés amers (d'environ 20 %), ainsi que l'amertume perçue dans les vins (Figure 4B). Les composés les plus affectés par ce traitement sont les composés phénoliques : acides phénols et flavonols.

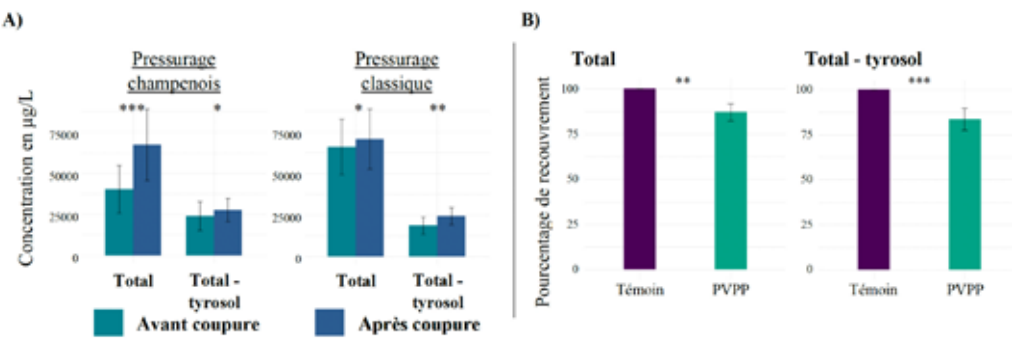


Figure 4 : A) « Box plots » de la somme des concentrations en composés amers avec et sans tyrosol selon la qualité des jus obtenus par pressurage « champenois » (gauche) et classique (droite) (test de Wilcoxon) ; B) Diagrammes en barres des pourcentages moyens de recouvrement des sommes des concentrations en composés amers dans les échantillons collés par rapport aux échantillons non collés (tests de Wilcoxon appariés).

Certains paramètres empiriquement liés à l'augmentation de la saveur amère des vins blancs comme l'intensité du pressurage et du débourage ainsi que l'utilisation de produits de collage trouvent en partie une explication analytique dans la quantification des composés amers connus.

Enfin, les expérimentations traitant des mécanismes d'évolution des vins, par l'étude de la contribution du vieillissement en bouteille des vins liquoreux (Figure 5A) et des phénomènes d'oxydation (Figure 5B) ont mis en évidence une diminution globale des concentrations des marqueurs connus avec l'âge des bouteilles et l'intensité de l'oxydation.

Les observations liées à l'augmentation de l'amertume en lien avec le vieillissement des vins liquoreux ou les phénomènes oxydatifs ne peuvent être expliquées par les teneurs en composés amers connus.

Les résultats de ces différentes études permettent d'apporter un éclairage sur certaines observations faites par les vinificateurs ou les consommateurs de vins mais pointent aussi de nombreuses zones d'ombre dans la connaissance de l'amertume des vins blancs, suggérant l'existence d'autres marqueurs moléculaires encore méconnus.

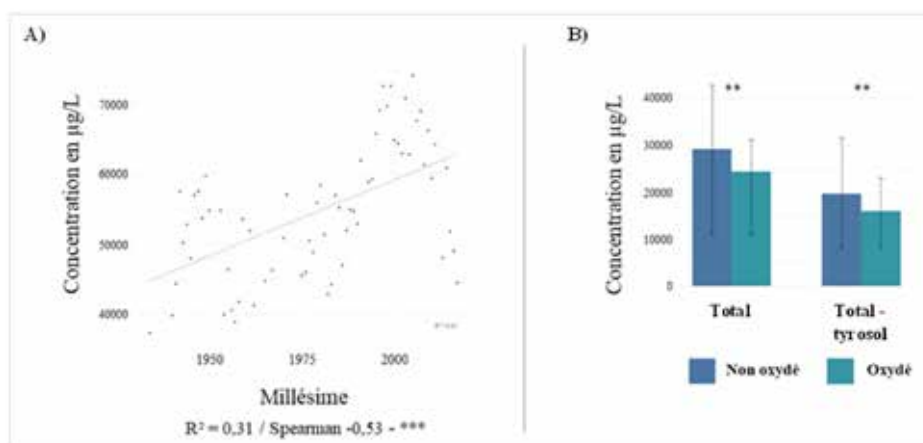


Figure 5 : A) Évolution de la concentration totale en composés amers en fonction de l'âge des vins (test de Spearman) ; B) Diagrammes en barres des concentrations en composés amers des vins analysés avant et après oxydation (test de Wilcoxon apparié).

II. RECHERCHE DE NOUVEAUX MARQUEURS MOLÉCULAIRES DE L'AMERTUME DANS LES VINS BLANCS.

1. Fractionnement d'échantillons de vins blancs amers par gustatométrie, isolement de composés sapides et élucidation structurale.

La recherche de nouveaux marqueurs moléculaires de l'amertume des vins blancs a tout d'abord été mise en place par le biais d'un protocole de purification de vins blancs amers guidée par l'analyse sensorielle et l'analyse en LC-HRMS. Cette stratégie, inspirée des protocoles de fractionnement bio-guidé, s'inscrit dans la lignée des travaux précédemment réalisés au laboratoire ayant conduit à l'identification de molécules sapides dans le vin (Marchal et al., 2011, Cretin et al., 2019, Winstel et al., 2020).

Ce protocole consiste à fractionner un échantillon de vin amer à l'aide de différentes techniques séparatives complémentaires : l'Extraction sur Phase Solide (SPE), l'Extraction Liquide-Liquide (ELL), la Chromatographie de Partage Centrifuge (CPC) et l'HPLC à l'échelle préparative (HPLC-Prep). À l'issue de chaque étape, les fractions recueillies sont libérées de toute trace de solvants, analysées par LC-HRMS et caractérisées sensoriellement par un groupe de dégustateurs experts. Seuls les extraits jugés les plus amers sont alors sélectionnés pour être fractionnés davantage jusqu'à l'obtention de produits purs. Les composés jugés amers isolés en quantité et pureté suffisantes sont ensuite identifiés par LC-MS/MS et spectroscopie RMN.

Cette stratégie sans a priori semble pertinente au regard de la diversité chimique des substances naturelles amères, elle a été mise en œuvre à partir de plusieurs échantillons de vins. Un premier vin blanc liquoreux amer VL1 a été traité (Figure 6) par SPE. L'élution au méthanol a été extraite par différents solvants de polarité croissante. L'extrait MtBE a ensuite été traité par deux CPC successives à l'issue desquelles cinq fractions ont été jugées amères. Elles contenaient suffisamment peu de composés détectés en LC-HRMS pour envisager la purification des principales molécules par HPLC-Prep. Deux autres vins amers secs VS1 et VS2, ont été sélectionnés et sont issus de cépages et régions différentes afin de conduire un travail similaire en variant les types de vins puisque rien n'indique que les mêmes composés soient responsables des différences sensorielles observées selon les types de vins. À l'issue du travail réalisé sur ces trois vins, une trentaine de composés ont été isolés et ceux jugés amers ont été identifiés par LC-MS/MS et/ou RMN.

Les faibles masses obtenues pour certains composés n'ont pas permis d'envisager une identification par spectroscopie RMN, ils ont donc été identifiés de façon putative à partir de leur spectre de fragmentation. C'est ainsi qu'un isomère d'acide trihydroxyoctadécénoïque (THODEA) a pu être annoté et semble être un composé prometteur au regard de l'intensité de son amertume (Figure 7).

Parmi les composés amers clairement identifiés par RMN, certains avaient déjà été décrits dans les vins, notamment pour leur amertume comme l'acide gallique, l'acide caftarique ou encore le dihydrokaempférol. D'autres composés ont en revanche été isolés dans ces travaux pour la première fois dans les vins : le sulfonate d'acide indole-lactique glucosylé (ILA-G-SO₃H) formé en présence de dioxygène et dioxyde

de soufre à partir de précurseurs d'origine variétale et l'acide hydroxyphényllactique (HPLA) d'origine fermentaire et dérivé de la tyrosine (Figure 7).

Deux molécules amères ont été formellement identifiées pour la première fois dans les vins à partir de la stratégie de fractionnement guidé par gustatométrie : l'HPLA et l'ILA-G-SO3H.

Des analogues de l'HPLA issus d'autres acides aminés ont été recherchés dans le vin par comparaison de spectres MS² à partir de standards analytiques commerciaux. Ils ont été dégustés afin de déterminer s'ils partageaient des propriétés sensorielles communes. Trois autres composés amers ont ainsi été identifiés : les acides phényllactique (PLA), indolelactique (ILA) et hydroxyisocaproïque (HICA) respectivement issus de la phénylalanine, du tryptophane et de la leucine d'origine variétale (Figure 7).

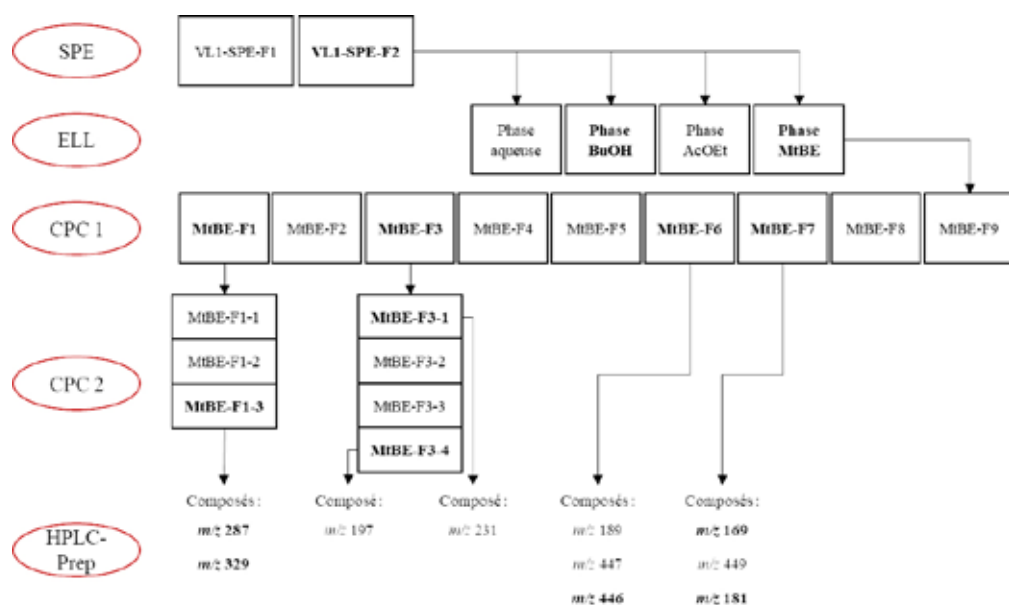


Figure 6 : Schéma récapitulatif du protocole de purification mis en place sur l'échantillon de vin blanc liquoreux VL1. Les fractions et composés en gras sont ceux qui ont été jugés amers.

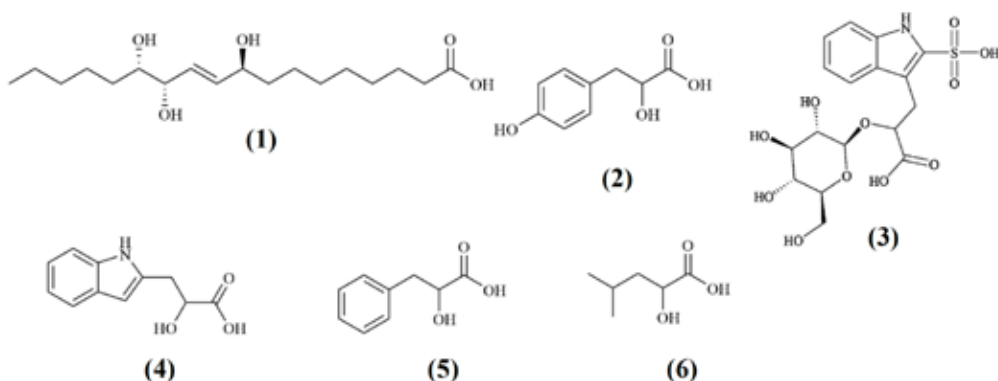


Figure 7 : Structures chimiques (1) d'un isomère de THODEA, l'acide pinellique, (2) de l'HPLA, (3) de l'ILA-G-SO₃H, (4) de l'ILA, (5) du PLA et (6) de l'HICA.

Trois structures analogues à l'HPLA et jugées amères ont été mises en évidence par comparaison spectrale avec des standards analytiques commerciaux. Il s'agit de la première identification de l'HICA dans la matrice vin.

2. Étude des composés amers purifiés : analyse sensorielle et quantitative dans les vins blancs secs et liquoreux.

Les différents composés identifiés ont ensuite été étudiés plus précisément au niveau analytique et sensoriel afin de déterminer plus clairement leur incidence sur le goût du vin. Les seuils de détection de l'HPLA et de l'HICA ont été déterminés en solution modèle à 5,6 mg/L et 9,1 mg/L respectivement. L'amertume des autres composés isolés a été modélisée par l'application de différents modèles prédictifs QSPR (BitterX (Huang et al., 2016 ; Fritz et al., 2021). L'amertume de l'ILA-G-SO₃H, du dihydrokaempférol et du THODEA fait consensus auprès des modèles utilisés, quand celle de l'ILA et du PLA est plus équivoque bien qu'ils aient été jugés amers à la dégustation.

L'amertume des composés isolés est validée par l'analyse sensorielle ou supportée par l'utilisation de modèles prédictifs QSPR.

Les données sensorielles issues de la détermination des seuils de détection n'ont véritablement de sens qu'en comparaison avec des données analytiques. C'est pourquoi une méthode de quantification en LC-HRMS a été développée pour l'HPLA et ses trois analogues afin d'établir clairement l'influence de ces composés sur le goût du vin et d'estimer l'influence de différents paramètres viti-vinicoles sur leurs teneurs. L'origine variétale des acides aminés précurseurs induit des différences de concentrations selon les cépages et la maturité. La formation de l'HPLA et de l'HICA semble favorisée par des conditions oxydatives et leur concentration est significativement supérieure dans les vieux échantillons de vins liquoreux, ce qui peut traduire une formation en bouteille en conditions d'oxydation ménagée. En outre, les teneurs de ces deux composés dépassent dans certains vieux millésimes de vins liquoreux les valeurs des seuils de détection. Ceci suggère une contribution significative à l'amertume de ces vins et participe à expliquer la réduction de la sucrosité perçue, phénomène observé empiriquement dans les vins liquoreux d'âge avancé.

L'incidence de différents paramètres viti-vinicoles sur les abondances des autres composés isolés a été déterminée. L'ILA-G-SO₃H semble provenir de précurseurs d'origine variétale, ce que traduisent des différences d'abondance entre les cépages et les régions viticoles. Ce composé ne semble pas affecté par le collage à la PVPP, il est préférentiellement formé dans les vins issus de moûts fortement clarifiés et durant l'oxydation des vins. Il pourrait ainsi expliquer en partie l'amertume marquée ressentie dans les vins oxydés. Le THODEA semble provenir de l'oxydation des acides gras insaturés du raisin. Ses teneurs ne varient pas entre les différents cépages étudiés mais augmentent avec la maturité, les phénomènes oxydatifs et sont plus élevées dans les vins liquoreux, en particulier issus de vieux millésimes. Il pourrait à ce titre contribuer à expliquer le mystérieux phénomène des vins liquoreux qui « mangent leur sucre », selon l'expression fétiche des amateurs, c'est-à-dire dont la perception sucrée s'atténue fortement avec le vieillissement, alors que l'analyse chimique montre que la teneur en glucose et fructose est stable.

L'étude des abondances des différents marqueurs isolés - HPLA et analogues, ILA-G-SO₃H et THODEA - semblent apporter des éléments de compréhension vis-à-vis de l'augmentation de l'amertume dans des conditions oxydatives et lors du vieillissement.

III. APPROCHE MÉTABOLOMIQUE DE LA RECHERCHE DE NOUVEAUX MARQUEURS DE L'AMERTUME DANS LES VINS BLANCS.

1. Développement d'une méthode d'analyse différentielle non ciblée pour identifier de nouveaux effecteurs de l'amertume.

L'application de ces stratégies de fractionnement bioguidé s'est révélée efficace au regard des différents composés qui ont été isolés. Afin de compléter ces protocoles, un troisième axe de travail a consisté à développer une stratégie alternative à la gustatométrie pour cibler les molécules pertinentes à purifier. L'utilisation d'une méthode d'analyse métabolomique non ciblée par LC-HRMS couplée à des méthodes statistiques multivariées (analyse différentielle, PLS-DA, DAPC) semble pouvoir parfaitement répondre à ces objectifs. Le ciblage des molécules s'effectue alors en amont de leur purification et l'annotation des composés cibles, à travers l'étude de leur spectre de fragmentation, permet d'éviter la purification de composés déjà connus.

Le développement de la méthode d'analyse non ciblée par LC-HRMS, de l'acquisition au traitement des données, a été réalisé afin de la mettre en place sur un vaste échantillonnage de vins blancs caractérisés au niveau sensoriel. Plusieurs molécules dont l'abondance était corrélée aux perceptions amères ont ainsi émergé. L'annotation de ces cibles à partir de leur spectre de fragmentation a révélé la contribution potentielle de dérivés d'acides aminés, dont certains sulfonatés, et de composés peptidiques.

Parmi les molécules ciblées, quatre dipeptides ont été identifiés par comparaison de spectres de fragmentation avec ceux de standards analytiques commerciaux. Deux ont été décrits ici pour la première fois dans les vins : les composés Val-Glu et Ser-Tyr, et deux autres ont déjà été étudiés dans cette matrice, notamment pour leur amertume : les isomères Val-Ile et Ile-Val (Desportes et al., 2000) (Figure 8).

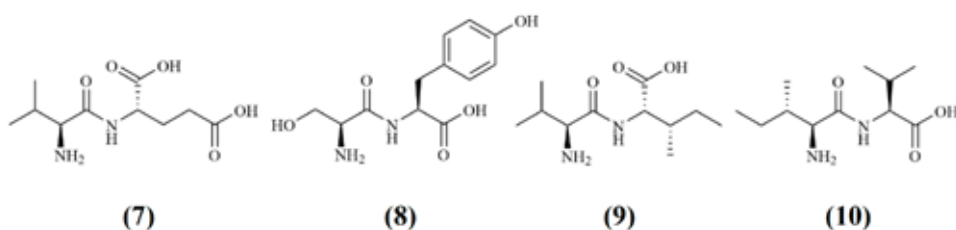


Figure 8 : Structures chimiques (7) de Val-Glu, (8) de Ser-Tyr, (9) de Val-Ile et (10) de Ile-Val.

Quatre dipeptides amers ont été identifiés à partir d'une stratégie de ciblage de molécules pertinentes vis-à-vis de la problématique de l'amertume, basée sur la métabolomique non ciblée.

Ces dipeptides ont ensuite été caractérisés au niveau sensoriel et quantitatif afin d'apporter des clefs de compréhension précises sur leur incidence gustative. Le seuil de détection du composé Ser-Tyr a été déterminé en solution modèle à 10,8 mg/L et l'amertume des autres dipeptides modélisée par des modèles QSPR. Une méthode de quantification a été développée afin de confronter ces valeurs et de déterminer quels paramètres viti-vinicoles contribuent majoritairement à l'accumulation de ces composés. Ces dipeptides semblent avoir une origine double, impliquant des précurseurs protéiques variétaux et les métabolismes azotés des micro-organismes du vin. Les concentrations des dipeptides semblent positivement corrélées à la maturité des raisins et à la turbidité des moûts, ce qui étaye l'implication des protéines du raisin. Enfin, ils sont également relativement sensibles à l'oxydation

en fonction de leur composition en acides aminés, les dipeptides Ser-Tyr et Val-Glu étant les plus sensibles à l'oxygène.

Les teneurs de ces composés dans les vins blancs secs et liquoreux analysés varient entre 0 et 4 mg/L et sont bien éloignées des seuils de détection mesurés ou décrits dans la littérature, suggérant une contribution directe limitée. Cependant, la supplémentation d'un vin blanc à différents niveaux de concentration infraliminaires en ces quatre composés s'est traduit par une augmentation de la perception amère, indiquant le potentiel collectif de ces molécules vis-à-vis de l'équilibre gustatif des vins blancs par le biais de phénomènes d'interactions perceptives.

Les dipeptides amers identifiés semblent avoir une incidence plus collective qu'individuelle sur l'amertume des vins. Ils apparaissent notamment corrélés au niveau de maturité des raisins ainsi qu'à la turbidité des moûts et sont sensibles aux phénomènes oxydatifs.

2. Étude de différents paramètres œnologiques liés à l'amertume des vins blancs par analyse métabolomique non ciblée.

Cette première stratégie de priorisation basée sur la métabolomique est perfectible et présente plusieurs limites, relatives à l'hétérogénéité de l'échantillonnage, à la méthode d'analyse sensorielle et aux capacités limitées de déréplication. Afin de les contourner et d'améliorer nos protocoles, une seconde approche a été développée et mise en place.

Tout d'abord, la construction d'une base de données spectrales, à partir d'une collection interne de 215 molécules du vin, a permis de répondre en partie aux exigences de déréplication dans le cadre de ces approches métabolomiques. Cette base de données, visant à être incrémentée régulièrement, constitue, à notre connaissance, la première ressource rendue publique de spectres MS² de cette envergure issue de composés purs du vin. Ce travail, réalisé en collaboration avec le Pr. Mehdi Beniddir de l'Université Paris-Saclay, est exploitable et libre d'accès sur la plateforme du GNPS (Wang et al., 2016).

Cette base de données a été valorisée dans le cadre d'une seconde approche métabolomique, visant à étudier individuellement deux paramètres du processus de vinification corrélés à une modification de l'amertume : le traitement des vins à la PVPP et le vieillissement en bouteille des vins liquoreux. Les molécules significativement corrélées à ces deux paramètres sont ciblées par l'application d'analyses statistiques multivariées. Leur contribution sensorielle est modélisée par l'application de modèles prédictifs QSPR. Enfin, l'utilisation conjointe des résultats prédictifs de l'amertume au sein de réseaux moléculaires ouvre la voie à la purification de molécules cibles pertinentes (Figure 9).

Les changements de la matrice non-volatile des vins liquoreux en fonction de leur âge ont été en partie caractérisés par l'application de cette méthode. Les résultats obtenus démontrent notamment la présence marquée de produits d'oxydation d'acides gras insaturés de chaîne carbonée C18, dont certains THODEA, dans les vieux vins liquoreux, rejoignant en ce sens l'étude de composés analogues précédemment isolés par gustatométrie. À notre connaissance, ces molécules n'ont jamais été spécifiquement identifiées ni caractérisées au niveau sensoriel dans les vins, bien que leur amertume ait déjà été décrite dans d'autres aliments (Bin et Peterson,

2016 ; Cong et al., 2021). Ce groupe de composés semble prometteur pour expliquer en partie la diminution de la sensation sucrée observée dans les vins liquoreux âgés.

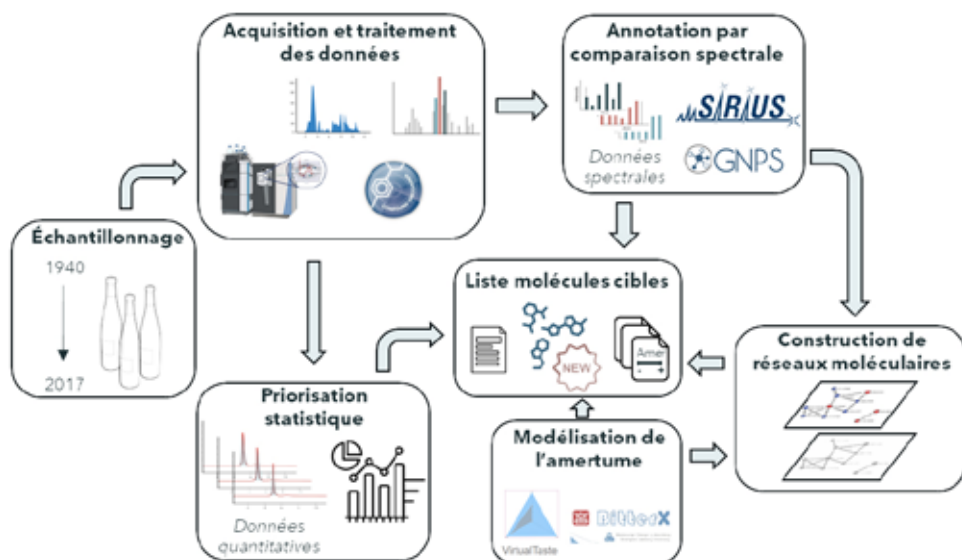


Figure 9 : Schéma de la stratégie mise en place pour cibler les composés majoritairement présents dans les vieux échantillons de vins liquoreux et dont l'amertume est présumée par des modèles prédictifs QSPR.

Un composé indolique sulfonaté a également été ciblé par ces travaux. Au regard de l'amertume du composé ILA-G-SO₃H partageant la même structure, et en faisant l'hypothèse d'une relation structure-goût, d'autres structures analogues ont été recherchées. Des réseaux moléculaires ont été construits sur la base des données spectrales enregistrées et ont été enrichis des données sensorielles prédites. Au final, plusieurs structures indoliques sulfonatéées ont émergé de ces travaux (Figure 10) et pourraient être pertinentes vis-à-vis de la problématique de l'amertume des vieux vins liquoreux.

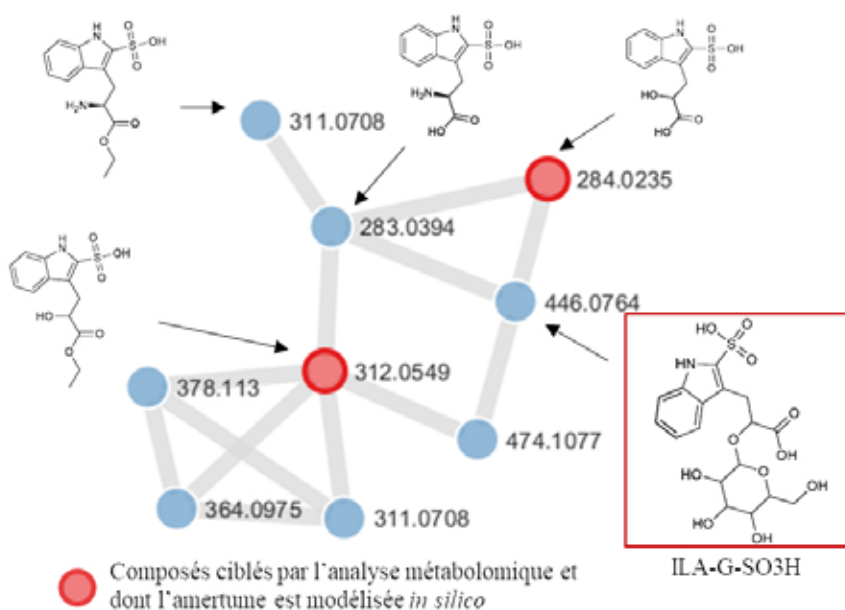


Figure 10 : Réseau moléculaire formé à partir des données spectrales acquises en mode d'ionisation négatif des 65 millésimes de vins liquoreux, et contenant les dérivés indoliques soufrés.

Les modifications gustatives liées au vieillissement en bouteille des vins liquoreux semblent trouver en partie une origine moléculaire dans plusieurs familles chimiques d'intérêt : les acides gras polyhydroxylés et les dérivés indoliques sulfonates.

Cette stratégie a également été mise en place pour caractériser les modifications moléculaires intervenant lors du traitement des vins blancs secs à la PVPP, reconnu pour affecter négativement l'amertume. Il apparaît que ce traitement affecte principalement des composés phénoliques dont les propriétés amères ont déjà été bien décrites. En outre, les résultats observés montrent l'importance de dérivés sulfonates de flavonoïdes (Figure 11). Ces marqueurs n'ont jamais été décrits dans les vins et pourraient contribuer à expliquer en partie les modifications gustatives liées à l'utilisation de traitement de collage comme la PVPP.

Les modifications gustatives liées au collage des vins à la PVPP semblent impliquer principalement des composés phénoliques dont des dérivés sulfonates de flavonoïdes encore méconnus dans les vins blancs.

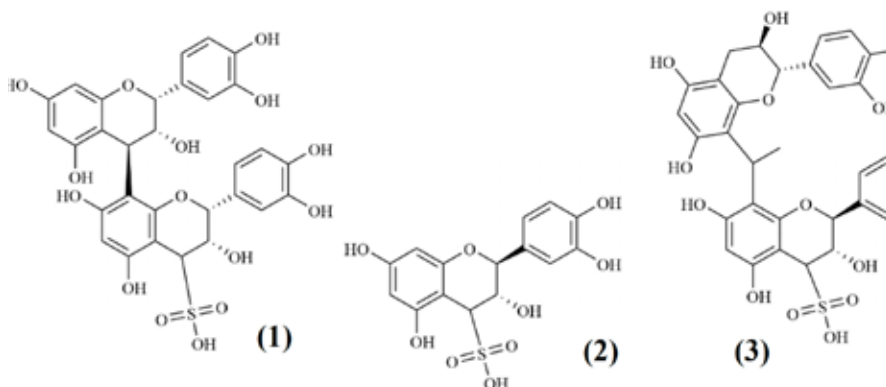


Figure 11 : Structures chimiques des dérivés sulfonates de flavonoïde : sulfonate de procyanidine B2 (1), sulfonate de catéchine (2) et sulfonate de dimère procyanidine « pont éthylidène » (3).

CONCLUSION

Comme l'évoque Émile Peynaud dans le *Goût du Vin* (1980), la dégustation pourrait se limiter à une appréciation hédonique basée sur les préférences de chacun. Cependant, l'examen éclairé du vin renforce le plaisir éprouvé et les émotions suscitées, par l'attention portée aux multiples stimulations sensorielles. La multitude de sensations gustatives provoquées par la dégustation du vin provient de son immense richesse en molécules sapides. Ces composés sont les messagers de la vie du vin. Ils racontent son terroir, sa vinification et son évolution et sont guidés de la vigne au verre par le vigneron. Ainsi, la compréhension moléculaire des sensations gustatives permet d'établir le lien avec les pratiques viti-vinicoles et d'apporter des éléments concrets visant à améliorer la qualité des vins et le plaisir que confère leur dégustation. Ces travaux se sont inscrits dans ce contexte, et visent à étoffer les connaissances à l'échelle moléculaire concernant l'amertume des vins blancs secs et liquoreux.

Un premier éclairage global concernant l'origine moléculaire de cette saveur dans les vins blancs secs et liquoreux a ainsi été établi. La contribution des marqueurs traditionnels a été décrite et a justifié la recherche de nouveaux marqueurs par des approches non ciblées, basées sur la gustatométrie ou sur l'analyse différentielle métabolomique. Enfin, différents paramètres viticoles et œnologiques ont été étudiés à travers leur incidence sur les teneurs des différents marqueurs de l'amertume, afin de mieux comprendre les pratiques liées à la gestion de cette saveur dans les vins blancs. Ces premiers éléments de compréhension ouvrent également de nombreuses perspectives et pistes de réflexion.

La complexité des mécanismes de perception de l'amertume rend cette saveur parfois difficile à appréhender. Les concentrations en composés amers mesurées dans ces travaux sont souvent faibles et inférieures aux seuils de détection déterminés en analyse sensorielle ou décrits dans la littérature. Ces résultats nous ont conduit à investiguer succinctement de potentiels mécanismes d'interactions perceptives. Les premières conclusions qui ont émané de ces travaux corroborent celles d'autres auteurs (Hufnagel et Hofmann, 2008 ; Winstel et al., 2020) et suggèrent que de tels phénomènes d'interactions perceptives existent et régissent

la perception de l'amertume dans les vins. Ces mécanismes devraient être étudiés de manière plus exhaustive afin de relier plus précisément les marqueurs moléculaires à la perception de l'amertume.

À l'issue de ces travaux, plusieurs familles chimiques attirent notre attention et constituent des champs d'étude prometteurs. En premier lieu, à travers leur implication dans le goût des vieux vins liquoreux, les produits d'oxydation d'acides gras insaturés à longue chaîne méritent d'être davantage étudiés. Les caractérisations structurale et sensorielle précises de ces marqueurs devront être conduites afin de clarifier leur incidence sur le goût du vin. La détection de multiples dérivés sulfonates corrélés à l'amertume tout au long de ce travail nous invite à considérer cette famille de composés comme de potentiels marqueurs de l'amertume des vins blancs. En particulier, les mécanismes de formation de ces composés devront être déterminés précisément afin d'établir l'influence de différents paramètres comme l'oxydation ou encore la dose et le moment du sulfitage.

L'utilisation d'approches métabolomiques non ciblées dans la recherche de molécules sapides du vin s'inscrit dans la lignée de ce qui est réalisé depuis quelques années au laboratoire (Winstel et al., 2022 ; Le Scanff et al., 2024). Les stratégies mises en place permettent de compléter celles qui avaient été développées, et de nombreuses perspectives d'amélioration ont émergé. La construction de réseaux moléculaires enrichis de données sensorielles, issues de modèles prédictifs ou d'analyse sensorielle, semble être une stratégie prometteuse dans la recherche de molécules sapides.

Les avancées technologiques permettent de décrire toujours mieux les molécules qui constituent le vin et leurs mécanismes de formation et de dégradation. Le développement des nouvelles stratégies présentées dans ces travaux pourra ainsi être poursuivi afin d'améliorer la compréhension moléculaire des différences organoleptiques perçues dans les vins blancs. Cela permettra d'enrichir les connaissances fondamentales et surtout de transmettre des préconisations pratiques éclairées visant à améliorer la qualité de la production viticole.

RÉFÉRENCES

- Bin, Q., & Peterson, D. G. (2016).** Identification of bitter compounds in whole wheat bread crumb. *Food Chemistry*, 203, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.116>
- Cong, W., Schwartz, E., Tello, E., Simons, C. T., & Peterson, D. G. (2021).** Identification of non-volatile compounds that negatively impact whole wheat bread flavor liking. *Food Chemistry*, 364, 130362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130362>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.070>
- Desportes, C., Charpentier, M., Duteurtre, B., Maujean, A., & Duchiron, F. (2000).** Liquid chromatographic fractionation of small peptides from wine. *Journal of Chromatography A*, 893(2), 281–291. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00698-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00698-1)
- Fritz, F., Preissner, R., & Banerjee, P. (2021).** VirtualTaste: A web server for the prediction of organoleptic properties of chemical compounds. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W679–W684. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab292>
- Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Cretin, B. N., Sindt, L., Dubourdieu, D., & Marchal, A. (2019).** Triterpenoids from *Quercus petraea*: Identification in Wines and Spirits and Sensory Assessment. *Journal of Natural Products*, 82(2), 265–275. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00682>
- Harding, J., & Robinson, J. (Eds.). (1994).** *The Oxford companion to wine* (Fifth edition). Oxford University Press.
- Huang, W., Shen, Q., Su, X., Ji, M., Liu, X., Chen, Y., Lu, S., Zhuang, H., & Zhang, J. (2016).** **BitterX:** A tool for understanding bitter taste in humans. *Scientific Reports*, 6(1), 23450. <https://doi.org/10.1038/srep23450>
- Hufnagel, J. C., & Hofmann, T. (2008).** Quantitative Reconstruction of the Nonvolatile Sensometabolome of a Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9190–9199. <https://doi.org/10.1021/jf801742w>
- Jackson, R. S. (2017).** *Wine tasting* (3rd revised edition). Elsevier Academic Press.
- Le Scanff, M., Marcourt, L., Rutz, A., Albertin, W., Wolfender, J.-L., & Marchal, A. (2024).** Untargeted metabolomics analyses to identify a new sweet compound released during post-fermentation maceration of wine. *Food Chemistry*, 461, 140801. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140801>
- Marchal, A., Cretin, B. N., Sindt, L., Waffo-Tégou, P., & Dubourdieu, D. (2015).** Contribution of oak lignans to wine taste: Chemical identification, sensory characterization and quantification. *Tetrahedron*, 71(20), 3148–3156. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.07.090>
- Marchal, A., Waffo-Tégou, P., Génin, E., Méron, J.-M., & Dubourdieu, D. (2011).** Identification of New Natural Sweet Compounds in Wine Using Centrifugal Partition Chromatography–Gustatory and Fourier Transform Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 83(24), 9629–9637. <https://doi.org/10.1021/ac202499a>
- Peynaud, E. (1980).** *Le Gout Du Vin - 5E Ed: Le Grand Livre De La Degustation*. DUNOD.
- Ribéreau-Gayon, P. (2012).** *Chimie du vin, stabilisations et traitements* (6e éd). Dunod “La Vigne.”
- Wang, M., Carver, J. J., Phelan, V. V., Sanchez, L. M., Garg, N., Peng, Y., Nguyen, D. D., Watrous, J., Kapon, C. A., Luzzatto-Knaan, T., Porto, C., Bouslimani, A., Melnik, A. V., Meehan, M. J., Liu, W.-T., Crüsemann, M., Boudreau, P. D., Esquenazi, E., Sandoval-Calderón, M., ... Bandeira, N. (2016).** Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, 34(8), 828–837. <https://doi.org/10.1038/nbt.3597>
- Winstel, D., Capello, Y., Quideau, S., & Marchal, A. (2022).** Isolation of a new taste-active brandy tannin A: Structural elucidation, quantitation and sensory assessment. *Food Chemistry*, 377, 131963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131963>
- Winstel, D., Gautier, E., & Marchal, A. (2020).** Role of Oak Coumarins in the Taste of Wines and Spirits: Identification, Quantitation, and Sensory Contribution through Perceptive Interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(28), 7434–7443. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02619>

Grand Prix 2024 - Camille Eicher

*Évolution adaptative
et acido-tolérance de la bactérie d'intérêt œnologique
Oenococcus oeni*

Grand Prix 2023 - Antonin Douillet

*Etude pluriannuelle de la sporée aérienne de Plasmopara viticola
par quantification moléculaire : un nouvel indicateur de risque
des épidémies du mildiou de la vigne.*

Grand Prix 2022 - Charlotte Brault

*Optimisation de la sélection de nouvelles variétés de vigne
à l'aide de la prédiction génomique et phénotypique.*

Grand Prix 2021 - Delphine Winstel

*Recherches sur les composés du bois de chêne modulant
la saveur des vins et des eaux-de-vie*

Grand Prix 2019 - Yann Raineau

*Défis environnementaux de la viticulture : une analyse
comportementale des blocages et des leviers d'action.*

Grand Prix 2017 - Liming Zeng

*Étude de la composition macromoléculaire du raisin
et des vins : impact sur la qualité sensorielle*

Grand Prix 2014 - Olivier Serra

Le législateur et le marché vinicole sous la Troisième République

Grand Prix 2013 – Dorothée Boyer-Paillard

*Essai sur les notions d'origine et de provenance en droit du commerce,
la reconnaissance juridique des « territoires des productions typiques »*

Grand Prix 2012 – Guillaume Antalick

*Bilan biochimique et sensoriel des modifications de la note fruitée des
vins rouges lors de la fermentation malolactique,
le rôle particulier des esters*

Grand Prix 2011 – Axel Marchal

Recherches sur les bases moléculaires de la saveur sucrée des vins secs

Grand Prix 2010 – Caroline Le Goffic

*La protection des indications géographiques en France,
dans la Communauté européenne et aux Etats-Unis*

Grand Prix 2009 - Katharina Zott

*Les levures non-Saccharomyces : dynamique, caractérisation et inter-
action avec Saccharomyces durant les étapes pré-fermentaires et la
fermentation alcoolique*

Grand Prix 2008 – Elise Sarrazin

*Recherches sur l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble issus des
cépages Sémillon et Sauvignon blanc
Caractérisation de composés clés et étude de leur genèse*

Grand Prix 2007 – Alexandre Pons

Recherche sur l'arôme de vieillissement prématuré des vins blancs secs

Grand Prix 2006 - Paulo Lopes

Etude des phénomènes oxydatifs pendant le vieillissement des vins en bouteille. Rôle de l'obturateur

Grand Prix 2005 - Stéphane La Guerche

Les défauts moisissés terreux des vins : la géosmine identifiée comme principale responsable

Grand Prix 2004 - Michael Jourdes

Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'Ellagitannins C-Glycosidique et Flavano-Ellagi tannins

Grand Prix 2003 Dominique Roujou de Boubée

Recherches sur la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine dans les raisins et dans les vins

Grand Prix 2002 -- Catherine Peyrot des Gachons

Recherches sur le potentiel aromatique des raisins de Vitis vinifera L.cv Sauvignon

Grand Prix 2001 - René Siret

Etude du polymorphisme génétique de la vigne cultivée (Vitis vinifera L.) à l'aide de marqueurs microsatellites : application à la caractérisation des cépages dans les vins

Grand Prix 2000 - Takatoshi Tominaga

Recherches sur l'arôme variétal des vins de Vitis vinifera L. cv. sauvignon blanc et sa genèse à partir de précurseurs inodores du raisin

Grand Prix 1999 - Isabelle Cutzach-Billard

Etude sur l'arôme des vins doux naturels non muscatés au cours de leur élevage et de leur vieillissement. Son origine. Sa formation

Grand Prix 1998 - Virginie Moine-Ledoux

Recherches sur le rôle des Mannoprotéines de levure vis à vis de la stabilité protéique et tartrique des vins

Grand Prix 1997 - Valérie Lavigne-Cruege

Recherche sur les composés soufrés formés par la levure au cours de la vinification et l'élevage des vins blancs secs

Grand Prix 1996 - Sylvie Biau

Etude de la matière colorante des vins blancs de Bordeaux

Grand Prix 1995 - Samuel Lubbers

Etude des interactions entre les macromolécules d'origine levurienne du vin et les composés d'arôme

Grand Prix 1994 - Ziya Günata

Etude et exploitation par voie enzymatique des précurseurs d'arôme du raisin, de nature glycosidique

Grand Prix 1993 - Pierre-Louis Teissedre

Le plomb, du raisin au vin

Grand Prix 1992 - Pascal Chatonnet

Incidence du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins, applications technologiques



Secrétariat de l'Académie Amorim
Emilie Loubié : +33 (0) 6 62 20 91 97
Email : emilie@academie-amorim.com

www.academie-amorim.com