

LES THIOLS VARIÉTAUX : POINT SUR LES VOIES DE BIOGENESE ET INCIDENCE DES ITINERAIRES DE PRODUCTION ET D'ELABORATION

Aurélien ROLAND¹, Florine CAVELIER², et Rémi SCHNEIDER^{1,3}

¹Nyseos SARL, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier (France)

²IBMM, UMR-CNRS 5247, U M I et II, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier (France)

³IFV, UMT Qualinnov, Domaine de Pech-Rouge, 11430 Gruissan (France)

Communication orale présentée par Rémi Schneider au Colloques Internationaux sur les Arômes du Vin (Project VINAROMAS), Toulouse et Saragosse, les 20 et 22 Novembre, 2012

Introduction

Les thiols variétaux et particulièrement la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one (4MMP, **1**), l'acétate de 3-mercaptohexyle (3MHA, **2**) et le 3-mercaptohexan-1-ol (3MH, **3**) ont été identifiés comme composés clefs de l'arôme des vins jeunes issus de différents cépages (Figure 1).

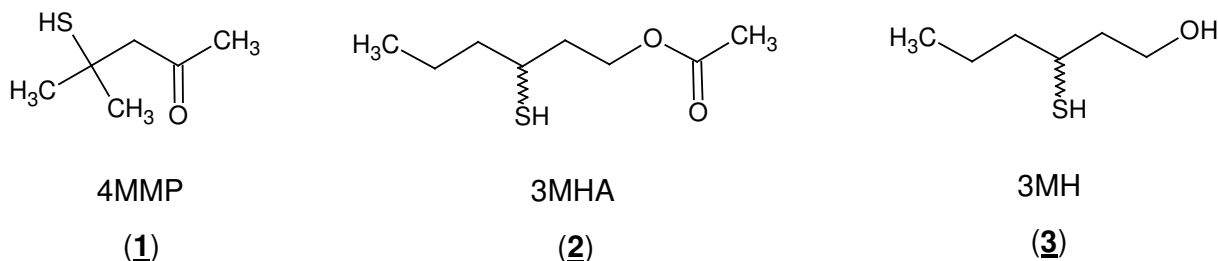


Figure 1 : Structures chimiques des trois thiols variétaux présents dans le vin

Leur contribution à l'arôme des vins a été mise en évidence par Du Plessis et Augustyn (Du Plessis *et al.*, 1981) qui ont démontré que l'arôme de goyave des Sauvignon sud-africains était essentiellement dû à la présence de 4MMP. A l'inverse des composés sulfurés légers comme le sulfure de carbone, l'éthanethiol, le méthane-thiol et l'hydrogène sulfuré produits à de fortes teneurs durant la fermentation alcoolique et responsables de défauts olfactifs, les thiols variétaux sont présents à l'état de traces dans certains vins de *Vitis Vinifera*, auxquels ils confèrent des odeurs agréables de bourgeons de cassis, de fruit de la passion et de pamplemousse.

Depuis 20 ans, l'intérêt des scientifiques et techniciens pour ces composés n'a cessé de croître. Cette revue propose de faire un point sur leurs voies de biosynthèse et sur l'effet des principales techniques culturales ou œnologiques sur leurs teneurs.

1. Les thiols variétaux : occurrence et contribution sensorielle

La 4MMP a été identifiée formellement pour la première fois dans les vins de Sauvignon Blanc (Darriet *et al.*, 1991; Darriet *et al.*, 1993; Darriet *et al.*, 1995), puis ceux de Scheurebe (Guth, 1997b), Maccabeo (Escudero *et al.*, 2004), Gewürztraminer, Riesling, Muscat, Colombard, Petit Manseng et Tokay (Dubourdieu *et al.*, 2009; Tominaga *et al.*, 2000).

Le 3MH et le 3MHA sont plus ubiquistes que la 4MMP puisqu'on les retrouve dans un grand nombre de vins de cépage comme le Sauvignon Blanc (Tominaga *et al.*, 1996; Tominaga *et al.*, 1998a), la Petite Arvine (Fretz *et al.*, 2005), les Petit et Gros Manseng (Tominaga *et al.*, 2000; Lopes *et al.*, 2005), le Melon B. et le Bacchus (Schneider *et al.*, 2003), le Sémillon (Tominaga *et*

al., 2000), le Verdejo (Campo *et al.*, 2005), mais aussi dans des cépages rouges comme le Grenache (Ferreira *et al.*, 2002), le Merlot et le Cabernet Sauvignon (Murat *et al.*, 2001b; Bouchilloux *et al.*, 1998) et dans les vins rosés de Provence (Masson *et al.*, 2009).

La 4MMP rappelle le buis et le bourgeon de cassis (Darriet *et al.*, 1991; Darriet *et al.*, 1993; Darriet *et al.*, 1995) et est présente à des concentrations souvent inférieures à 70 ng/L, pour un seuil de détection olfactive de 0,8 ng/L en solution hydro-alcoolique (Tominaga *et al.*, 2000). Les 3MH et 3MHA, qui sont plus abondants, confèrent aux vins blancs et rosés les notes fruitées tant recherchées de fruit de la passion et pamplemousse (Murat *et al.*, 2001c; Ferreira *et al.*, 2002; Tominaga *et al.*, 2000) avec des seuils de perception olfactive proches de 60 et 4 ng/L respectivement (Tominaga *et al.*, 2000). Il faut noter que le 3MH est rapporté comme responsable des notes de cassis de certains vins rouges (Blanchard, 2000).

La chromatographie gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O) constitue un des moyens de sélectionner les molécules sensoriellement actives dans les vins. C'est cette technique, qui utilise le nez humain comme détecteur, qui a permis la mise en évidence de la 4MMP dans les vins de Sauvignon Blanc (Darriet *et al.*, 1991). Couplée à des techniques de dilution (AEDA - Aroma Extract Dilution Analysis), la GC-O a permis d'identifier la 4MMP comme le composé ayant la plus grande contribution à l'arôme des vins de Scheurebe, (Guth, 1997a) [ENREF 46](#). Des études similaires ont démontré le rôle central du 3MH dans l'arôme des vins de Sauternes (Sarrazin *et al.*, 2007). En parallèle des expériences d'olfactométrie, le ratio concentration et seuil de perception olfactive peut aider à déterminer les composés les plus odorants dans le vin. Cette approche a mis en évidence la contribution des trois thiols variétaux dans l'arôme de vieux vins espagnols (Cullere *et al.*, 2004), tandis que le 3MHA représente le composé le plus odorant des vins de Marmajuelo et Verdello (Lopez *et al.*, 2003).

Cependant la GC-O ne prend pas en compte les effets d'interaction des composés volatils entre eux et avec la matrice. Pour pallier ce manque, des expérimentations de reconstitution d'odeurs ont été développées qui sont un des meilleurs moyens de mesurer la contribution des interactions à l'arôme des vins. Une stratégie basée sur la détermination qualitative et quantitative des composés odorants d'impact, suivie de tests d'omission a ainsi permis de démontrer que le 3MH était l'arôme clef des vins rosés de Grenache (Ferreira *et al.*, 2002). Analyses sensorielles et chimiques menées en parallèle peuvent, dans des situations simples, permettre de faire le lien entre composés d'arôme et sensations olfactives, comme cela a été récemment démontré dans les Sauvignon de Nouvelle-Zélande dans lesquels les teneurs en 3MH et 3MHA peuvent permettre de prédire le caractère « fruit tropical » des vins (Lund *et al.*, 2009). Pour d'autres sensations, la prédiction est plus difficile, même pour des vins de Sauvignon, comme dans le cas du caractère végétal où différents composés interagissent (2-isobutyl-3-méthoxypyrazine, composés en C6, 4MMP), et ce d'autant plus que l'on essaie d'y corréler les préférences des consommateurs (King *et al.*, 2011; Green *et al.*, 2011).

2. Les voies de biogénèse dans les vins

La 4MMP, le 3MH et le 3MHA sont des arômes variétaux dans la mesure où ils proviennent essentiellement du clivage, au cours de la fermentation, de précurseurs inodores présents dans les raisins et les moûts.

Trois voies biogénétiques sont maintenant admises qui participent à la formation de la 4MMP et du 3MH dans les vins (Figure 2). La formation du 3MHA est quant à elle particulière puisqu'elle consiste en l'acétylation par la levure du 3MH (Swiegers *et al.*, 2007).

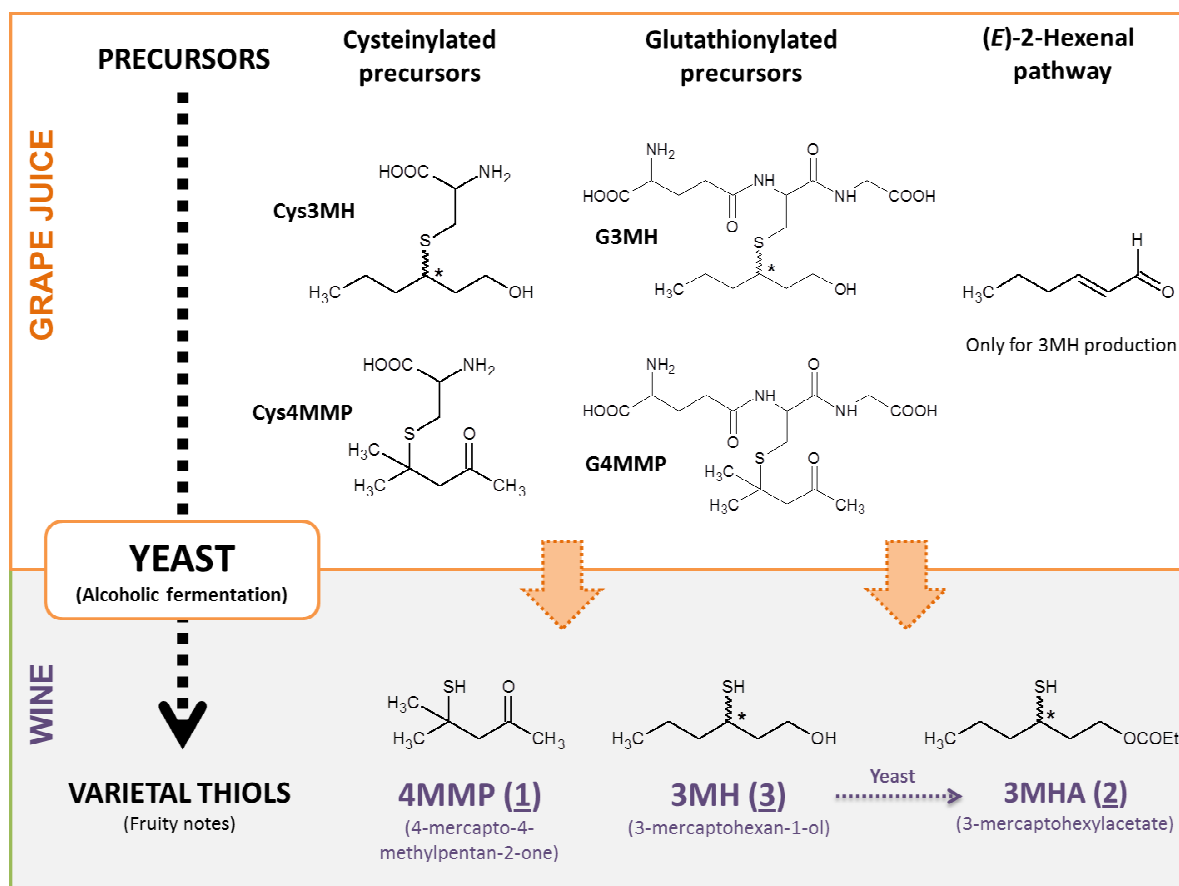


Figure 2 : Les voies de biogenèse des thiols variétaux dans les vins

La première voie implique les précurseurs cystéinylés qui ont été identifiés pour la première fois dans les raisins de Sauvignon Blanc (Tominaga *et al.*, 1995; Tominaga *et al.*, 1998b), puis de Merlot et Cabernet Sauvignon (Murat *et al.*, 2001b), de Sémillon (Thibon *et al.*, 2009), des Petit et Gros Manseng (Lopes *et al.*, 2005), de Riesling, de Melon B. et de Gewürztraminer (Roland *et al.*, 2010b) et enfin de Koshu (Kobayashi *et al.*, 2010a). Ces S-conjugués à la cystéine sont clivés par la levure à l'aide de l'activité β -lyase durant les premiers jours de la fermentation alcoolique (Tominaga *et al.*, 1998b). La S-3-(hexan-1-ol)-cystéine (Cys3MH) est plus ubiquiste et abondante que la S-3-(4-mercapto-4-méthylpentan-2-one)-cystéine (Cys4MMP) (Roland *et al.*, 2010d; Murat *et al.*, 2001b; Peyrot des Gachons *et al.*, 2000), ce qui est cohérent par rapport aux proportions relatives des thiols correspondants. Ces précurseurs cystéinylés sont largement répandus dans les plantes comme rappelé par Starkenmann (Starkenmann *et al.*, 2008) et constituent ainsi une source importante d'arôme pour l'industrie.

La deuxième voie concerne les précurseurs glutathionylés : le S-3-(hexan-1-ol)-glutathion (G3MH), identifié de manière tentative dans les raisins de Sauvignon Blanc (Peyrot des Gachons *et al.*, 2002b), puis formellement dans ceux de Melon B. (Roland *et al.*, 2010d), Riesling (Roland *et al.*, 2010b) et Gewürztraminer (Roland *et al.*, 2010b), et ensuite de Chardonnay (Capone *et al.*, 2010a), Pinot Gris (Capone *et al.*, 2010a) et Koshu (Kobayashi *et al.*, 2010a) et le S-3-(4-mercapto-4-méthylpentan-2-one)-glutathion (G4MMP), présent dans le Sauvignon Blanc (Fedrizzi *et al.*, 2009), le Riesling et le Gewürztraminer (Roland *et al.*, 2010d). Différents travaux sur milieux modèles (Grant-Preece *et al.*, 2010; Kobayashi *et al.*, 2010a) ou sur moût de Sauvignon Blanc (Roland *et al.*, 2010b), additionnés de G3MH puis fermentés, ont montré la présence dans les vins correspondants de 3MH et ainsi démontré que le G3MH constituait un autre précurseur du 3MH. Des résultats similaires ont été observés pour la G4MMP sur des moûts de Sauvignon Blanc (Roland *et al.*, 2010c).

Les formes glutathionylés sont généralement présentes dans les raisins et les moûts à des teneurs plus faibles que les formes cystéinylées (Roland *et al.*, 2010d), et le G3MH est toujours plus fortement concentré que le G4MMP ce qui est cohérent avec la répartition des thiols correspondants dans les vins (Tableau 1). Les teneurs s'échelonnent de 0.2 à 7.3 µg/L pour les Sauvignon Blanc, Melon B., Riesling et Gewürztraminer (Roland *et al.*, 2010d) ; celles de la G4MMP sont beaucoup plus faibles, entre 0,03 et 4,3 µg/L.

Références	Cépage	Précurseurs du 3MH		Précurseurs de la 4MMP	
		Cys3MH	G3MH	Cys4MMP	G4MMP
(Peyrot des Gachons <i>et al.</i> , 2000)	Sauvignon Blanc	20 -100	-	0. 2- 2.5	-
(Luisier <i>et al.</i> , 2008)	Petite Arvine	30 - 85	-	-	-
(Subileau <i>et al.</i> , 2008a)	Sauvignon Blanc	11-35	-	-	-
(Thibon <i>et al.</i> , 2010)	Sauvignon Blanc et Semillon (botrytisés)	4-80 520 – 2000	- -	- -	- -
(Capone <i>et al.</i> , 2010b)	divers	10 - 55	140 - 640	-	-
(Kobayashi <i>et al.</i> , 2010b)	Koshu	22 - 50	6 - 18	-	-
(Roland <i>et al.</i> , 2011)	divers	6 - 130	1 - 10	3 - 20	0.2 - 1

Tableau 1 : Concentrations moyennes en précurseurs de thiols dans différents cépages

Pour finir, une dernière voie de biogénèse a été mise en évidence par le passé, qui implique les composés en C6 insaturés comme le (*E*)-2-hexénal qui subissent l'addition d'un groupement sulfhydryle pendant la fermentation alcoolique (Schneider *et al.*, 2006). Cependant, le donneur de soufre n'a pas encore été identifié : il pourrait s'agir de composés comme l'H₂S, la cystéine, le glutathion ou d'autres composés possédant une fonction thiol libre dans les moûts.

3. Les principaux facteurs de variation au vignoble

L'évolution à la vigne des précurseurs de thiols a été assez peu étudiée, du fait de la difficulté de leur analyse. Les quelques résultats disponibles concernent les effets de la maturité des raisins, le site d'implantation de la vigne (terroir), la contrainte hydrique et la fertilisation azotée.

L'évolution des précurseurs cystéinylés au cours de la maturation a été étudiée dès le début des années 2000 sur Sauvignon : si la maturation est favorable à l'accumulation de ces précurseurs dans les baies, l'effet millésime reste très important (Peyrot des Gachons *et al.*, 2000). Des résultats similaires ont été démontrés sur Sauvignon à Sancerre et en Touraine, pour l'ensemble des conjugués à la cystéine et au glutathion même si l'évolution de la Cys4MMP semble plus dépendante du site d'implantation de la vigne (Roland *et al.*, 2010e).

La contrainte hydrique présente également un effet sur les précurseurs cystéinylés et dans ce contexte, les teneurs en Cys3MH s'avèrent proportionnelles au stress hydrique (en région bordelaise) alors que la Cys4MMP a un comportement inverse (Choné, 2001).

Ce même auteur signale un lien entre la fertilisation azotée au sol et la teneur en précurseurs (et en glutathion) tandis que le niveau de polyphénols diminue ce qui concourt à la production de vins plus riches en thiols (Choné *et al.*, 2006). De manière similaire, la pulvérisation d'azote foliaire après véraison augmente la teneur en thiols des vins sans augmenter la vigueur et l'attaque des baies par *Botrytis cinerea* comme cela peut être le cas quand l'amendement azoté au sol est mal maîtrisé (Lacroux *et al.*, 2008). Cette augmentation des thiols semble cependant plus due à l'effet en fermentation de l'augmentation de l'azote assimilable induite, qu'à l'augmentation directe des teneurs en précurseurs.

4. Les principaux facteurs de variation en vinification

4.1 Lors de l'élaboration des moûts

L'élaboration des moûts constitue une étape clef dans le procédé de vinification des vins blancs et rosés.

Le pressurage induit en effet une libération dans le milieu d'acide hydroxycinnamiques (acide caftarique principalement) qui, en présence de la polyphénoloxydase endogène et d'oxygène, génère des *o*-quinones. Tant que du glutathion est présent, ces quinones s'additionnent sur ce tripeptide pour former le GRP (grape reaction product) (Cheynier *et al.*, 1986; Singleton *et al.*, 1985). Quand les teneurs en glutathion diminuent, ces quinones se condensent, au cours de réactions couplées, avec d'autres substrats polyphénoliques comme les flavonoïdes pour former des pigments bruns.

A ce stade de la vinification, les thiols variétaux sont présents à l'état de *S*-conjugués et ne sont donc pas oxydables, au vu de la stabilité dans les conditions œnologiques de la liaison thioéther. Ainsi de manière cohérente, Roland et coll. ont montré que les teneurs en précurseurs cystéinylés du 3MH et de la 4MMP, ainsi que la G4MMP, étaient stables durant des expérimentations d'oxydation contrôlée de moûts de Sauvignon et de Melon (Roland *et al.*, 2010e) alors que celles du G3MH augmentaient. Cette formation pourrait être la conséquence de l'addition du glutathion sur le (*E*)-2-hexènal, produit d'oxydation enzymatique des lipides insaturés du raisin. Cette réaction pourraient ainsi expliquer la formation de G3MH lors des opérations pré-fermentaires (Roland *et al.*, 2010e).

D'autres techniques pré-fermentaires comme la macération permettent aussi d'augmenter les teneurs en thiols des vins. La localisation des précurseurs de thiols dans la baie, préférentiellement dans la pellicule, explique les gains en précurseurs à l'issue de la macération pelliculaire qui ont été observés par plusieurs auteurs (Peyrot des Gachons *et al.*, 2002a; Murat *et al.*, 2001b; Maggu *et al.*, 2007; Roland *et al.*, 2010a). Il faut cependant noter que, dans cette répartition, des différences existent entre précurseurs (Cys4MMP plus dans la pulpe que dans la pellicule) ou entre variétés (G3MH du Melon B. préférentiellement dans la pulpe). Par ailleurs, l'extraction conjointe des polyphénols lors de la macération pelliculaire doit amener les œnologues à modérer cette technique, puisque ces derniers sont préjudiciables à la tenue des thiols dans les vins (cf. 4.4).

4.2 Lors de la fermentation alcoolique

Les thiols variétaux sont libérés lors des tous premiers jours de la fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae* grâce à son activité β -lyase. Selon les auteurs, plusieurs (Howell *et al.*, 2005) ou un seul gène, IRC7 (Thibon *et al.*, 2008) seraient impliqués dans le clivage de la Cys4MMP. La conversion du Cys3MH semble quant à elle plus complexe. Notons que ces études

du déterminisme génétique de la réaction du clivage ne concernent que les S-conjugués à la cystéine et qu'aucune donnée n'est disponible pour les S-conjugués au glutathion. Ainsi, le choix de la souche de levure est un facteur important de réussite dans la production de vins type thiols. De nombreuses levures commerciales sont disponibles qui ont monté leur capacité à révéler des thiols (Howell *et al.*, 2004; Murat *et al.*, 2001a; Swiegers *et al.*, 2006; Dubourdiou *et al.*, 2006). Il est cependant hasardeux de vouloir les classer par ordre de performance puisqu'une étude récente a montré que l'origine du moût, et donc sa composition, étaient le facteur le plus important de différenciation des vins (Schneider, communication personnelle). Par ailleurs, il faut signaler que la combinaison de souches peut être un moyen efficace d'augmenter la production de 3MH et de 3MHA (King *et al.*, 2008). Des études récentes ont par ailleurs mis en évidence l'intérêt de souches non-saccharomyces comme *Pichia kluyveri* (Anfang *et al.*, 2009) ou d'hybrides interspécifiques comme ceux issus du croisement *S. cerevisiae* x *S. bayanus* var. *uvarum* (Dubourdiou *et al.*, 2006; Masneuf *et al.*, 2002). Cependant, gardons en mémoire que dans tous les cas les rendements de conversions par la ou les levures ne dépassent pas 10% en œnologie.

Peu d'études en revanche ont porté sur la problématique du transport des précurseurs de thiols dans la cellule levurienne, étape pourtant requise pour leur clivage. Le transporteur général des acides aminés a été identifié comme un des transporteurs des précurseurs cystéinylés en milieu modèle (Subileau *et al.*, 2008b), transporteur dont la synthèse est réprimée par un excès d'ammonium (Nitrogen Catabolic Repression). Ainsi, la nature et le moment d'ajout des nutriments azotés en fermentation doivent être contrôlés pour permettre une meilleure production de thiols dans les vins.

La température de fermentation est également un facteur important qui influe sur la production des thiols. Une fermentation à 20°C apparaît plus favorable à cette production qu'à 13°C (Masneuf-Pomarede *et al.*, 2006) mais cette observation semble cependant dépendante de la souche de levure considérée (Howell *et al.*, 2004).

4.3 Lors du stockage et du vieillissement

Après fermentation alcoolique, les thiols sont sous forme libre, et de ce fait, chimiquement instables puisqu'ils sont facilement oxydables ou réagissent aisément avec d'autres composés du vin par addition nucléophile (Hofmann *et al.*, 1996; Sarrazin *et al.*, 2010).

Toute dissolution d'oxygène à partir de ce moment doit être parfaitement contrôlée, et d'une manière générale évitée. A l'embouteillage par exemple l'oxygène présent dans l'espace de tête ainsi que par la suite l'OTR des obturateurs peut induire des pertes aromatiques importantes sur une période de stockage de 24 mois seulement (Lopes *et al.*, 2009; Lopes *et al.*, 2005; Lopes *et al.*, 2006). Selon le type de vins, l'oxygène peut être préjudiciable à la qualité aromatique des produits puisque, à côté du brunissement des vins qu'il induit, il peut provoquer la diminution des thiols variétaux (Skouroumounis *et al.*, 2005). Les mécanismes sous-jacents impliquent la formation d'adduits entre les thiols, molécules électrophiles et certains composés phénoliques (Nikolantonaki *et al.*, 2009). Ainsi la présence de (+)-catéchine et de (-)-épicatéchine avec du Fe(III) catalyse leur oxydation en quinones qui s'additionnent sur les thiols.

Cependant l'absence d'oxygène à l'embouteillage peut également être la cause de l'apparition de défauts de réduction importants et un compromis doit donc être trouvé selon le type de vin et sa « durée de vie ».

Le vieillissement sur lies avant embouteillage, la présence constante de SO₂ libre, de glutathion et d'anthocyanes dans le cas des vins rouges et rosés, sont autant de facteurs permettant une meilleure tenue des vins d'un point de vue aromatique (Blanchard *et al.*, 2004; Brajkovich *et al.*, 2005; Murat *et al.*, 2003).

Conclusion

Ainsi l'arôme de type thiol des vins apparaît fortement influencé par les techniques viticoles et œnologiques. Différentes étapes clés apparaissent. Dans une logique de production de vins dans lesquels les thiols jouent un rôle sensoriel, il s'agit de :

- favoriser l'accumulation des précurseurs dans les raisins
- piloter leur extraction lors de l'élaboration des moûts rosés ou blancs
- augmenter leur taux de conversion en fermentation par le choix de la souche de levure, les conditions de fermentation et une nutrition azotée adaptée
- Et enfin, raisonner les étapes post-fermentaires, et notamment s'assurer du contrôle de la dissolution d'oxygène, pour favoriser leur maintien dans les vins

De nombreuses études doivent encore être menées dans ces domaines applicatifs pour permettre un pilotage de la vinification, mais les résultats exposés ici laissent déjà envisager certaines pistes qu'il reste à intégrer dans des procédés de vinifications complets.

Par ailleurs, si la contribution des thiols est bien connue dans certains modèles de vins (Sauvignon, Colombar, certains vins rosés) des travaux plus approfondis doivent être conduits encore pour mieux comprendre le rôle des interactions de ces composés avec les autres composés volatils, ce qui implique une pluridisciplinarité plus forte allant de la chimie à la physiologie de l'olfaction.

Références bibliographiques

Anfang N, Brajkovich M & Goddard MR. 2009. Co-fermentation with *Pichia kluyveri* increases varietal thiol concentrations in Sauvignon Blanc. *Aust. J. Grape Wine R.* 15(1):1-8.

Blanchard L. 2000. Recherche sur la contribution de certains thiols volatils à l'arôme des vins rouges. Etude de leur genèse et de leur stabilité. Bordeaux: Université Victor Segalen.

Blanchard L, Darriet P & Dubourdiou D. 2004. Reactivity of 3-Mercaptohexanol in Red Wine: Impact of Oxygen, Phenolic Fractions, and Sulfur Dioxide. *Am. J. Enol. Vitic.* 55(2):115-120.

Bouchilloux P, Darriet P, Henry R, Lavigne-Cruege V & Dubourdiou D. 1998. Identification of Volatile and Powerful Odorous Thiols in Bordeaux Red Wine Varieties. *J. Agric. Food Chem.* 46(8):3095-3099.

Brajkovich M, Tibbits N, Peron G, Lund CM, Dykes SI, Kilmartin PA & Nicolau L. 2005. Effect of screwcap and cork closures on SO₂ levels and aromas in a Sauvignon Blanc wine. *J. Agric. Food Chem.* 53(26):10006-10011.

Campo E, Ferreira V, Escudero A & Cacho J. 2005. Prediction of the Wine Sensory Properties Related to Grape Variety from Dynamic-Headspace Gas Chromatography-Olfactometry Data. *J. Agric. Food Chem.* 53(14):5682-5690.

Capone DL, Sefton MA, Hayasaka Y & Jeffery DW. 2010a. Analysis of Precursors to Wine Odorant 3-Mercaptohexan-1-ol Using HPLC-MS/MS: Resolution and Quantitation of Diastereomers of 3-S-Cysteinylhexan-1-ol and 3-S-Glutathionylhexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* 58(3):1390-1395.

Capone DL, Sefton MA, Hayasaka Y & Jeffery DW. 2010b. Analysis of Precursors to Wine Odorant 3-Mercaptohexan-1-ol Using HPLC-MS/MS: Resolution and Quantitation of Diastereomers of 3-S-Cysteinylhexan-1-ol and 3-S-Glutathionylhexan-1-ol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(3):1390-1395.

Cheyrier VF, Trousdale EK, Singleton VL, Salgues MJ & Wylde R. 1986. Characterization of 2-S-glutathionyl caftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *J. Agric. Food Chem.* 34(2):217-221.

Choné X. 2001. Contribution à l'étude des terroirs de Bordeaux : étude des déficits hydriques modérés, de l'alimentation en azote et de leurs effets sur le potentiel aromatique des raisins de *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc.: University of Bordeaux. p. 188.

Choné X, Lavigne-Cruège V, Tominaga T, Leeuwen CV, Castagnède C, Saucier C & Dubourdiou D. 2006. Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potential: Flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content in *Vitis Vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc grape juice. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 40(1):1-6.

Cullere L, Escudero A, Cacho J & Ferreira V. 2004. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality spanish aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* 52(6):1653-1660.

Darriet P, Lavigne V, Boidron JN & Dubourdiou D. 1991. Caractérisation de l'arôme variétal des vins de Sauvignon par couplage CPG-Olfactométrie. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 25(3):167-174.

Darriet P, Tominaga T, Lavigne V, Boidron JN & Dubourdiou D. 1993. Mise en évidence dans le raisin de *Vitis Vinifera* J. (var. Sauvignon) d'un précurseur de la 4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one. *C. R. Acad. Sci. Paris* 316:1332-1335.

Darriet P, Tominaga T, Lavigne V, Boidron JN & Dubourdiou D. 1995. Identification of a powerful aromatic component of *Vitis Vinifera* L.var. Sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one Flavour Fragrance *J.* 10:385-392.

Du Plessis CS & Augustyn OPH. 1981. Initial study on the guava aroma of Chenin Blanc and Colombar wines. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2(2):101-103.

Dubourdiou D & Tominaga T. 2009. Polyfonctionnel Thiol Compounds. In: Moreno-Arribas, V. & Polo, C., editors. *Wine chemistry and biochemistry.* Springer. p. 275.

Dubourdiou D, Tominaga T, Masneuf I, Peyrot des Gachons C & Murat ML. 2006. The Role of Yeasts in Grape Flavor Development during Fermentation: The Example of Sauvignon blanc. *Am. J. Enol. Vitic.* 57(1):81-88.

Escudero A, Gogorza B, Melus MA, Ortin N, Cacho J & Ferreira V. 2004. Characterization of the aroma of a wine from maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *J. Agric. Food Chem.* 52(11):3516-3524.

Fedrizzi B, Pardon KH, Sefton MA, Elsey GM & Jeffery DW. 2009. First Identification of 4-S-Glutathionyl-4-methylpentan-2-one, a Potential Precursor of 4-Mercapto-4-methylpentan-2-one, in Sauvignon Blanc Juice. *J. Agric. Food Chem.* 57(3):991-995.

Ferreira V, Ortin N, Escudero A, Lopez R & Cacho J. 2002. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *J. Agric. Food Chem.* 50(14):4048-4054.

Fretz CB, Luisier J-L, Tominaga T & Amado R. 2005. 3-Mercaptohexanol: An Aroma Impact Compound of Petite Arvine Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 56(4):407-410.

Grant-Preece PA, Pardon KH, Capone DL, Cordente AG, Sefton MA, Jeffery DW & Elsey GM. 2010. Synthesis of Wine Thiol Conjugates and Labeled Analogues: Fermentation of the Glutathione Conjugate of 3-Mercaptohexan-1-ol Yields the Corresponding Cysteine Conjugate and Free Thiol. *J. Agric. Food Chem.* 58(3):1383-1389.

Green JA, Parr WV, Breitmeyer J, Valentin D & Sherlock R. 2011. Sensory and chemical characterisation of Sauvignon blanc wine: Influence of source of origin. *Food Res. Int.* 44(9):2788-2797.

Guth H. 1997a. Identification of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *J. Agric. Food Chem.* 45(8):3022-3026.

Guth H. 1997b. Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *J. Agric. Food Chem.* 45(8):3027-3032.

Hofmann T, Schieberle P & Grosch W. 1996. Model Studies on the Oxidative Stability of Odor-Active Thiols Occurring in Food Flavors. *J. Agric. Food Chem.* 44(1):251-255.

Howell KS, Swiegers JH, Elsey GM, Siebert TE, Bartowsky EJ, Fleet GH, Pretorius IS & de Barros Lopes MA. 2004. Variation in 4-mercapto-4-methyl-pentan-2-one release by *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 240(2):125-129.

King ES, Osidacz P, Curtin C, Bastian SEP & Francis IL. 2011. Assessing desirable levels of sensory properties in Sauvignon Blanc wines - consumer preferences and contribution of key aroma compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17(2):169-180.

King ES, Swiegers JH, Travis B, Francis IL, Bastian SE & Pretorius IS . 2008. Coinoculated fermentations using *saccharomyces* yeasts affect the volatile composition and sensory properties of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc wines. *J. Agric. Food Chem.* 56(22):10829-10837.

Kobayashi H, Takase H, Kaneko K, Tanzawa F, Takata R, Suzuki S & Konno T. 2010a. Analysis of S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine in *Vitis vinifera* L. cv. Koshu for aromatic wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 61(2):176-185.

Kobayashi H, Takase H, Kaneko K, Tanzawa F, Takata R, Suzuki S & Konno T. 2010b. Analysis of S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine in *Vitis vinifera* L. cv. Koshu for aromatic wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 61(2):61 (62) 176-185.

Lacroux F, Tregoat O, Leeuwen CV, Pons A, Tominaga T, Lavigne-Cruège V & Dubourdiou D. 2008. Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression of *Vitis Vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 42(3):125-132.

Lopes P, Saucier C & Glories Y. 2005. Nondestructive Colorimetric Method To Determine the Oxygen Diffusion Rate through Closures Used in Winemaking. *J. Agric. Food Chem.* 53(18):6967-6973.

Lopes P, Saucier Cd, Teissedre P-L & Glories Y. 2006. Impact of Storage Position on Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *J. Agric. Food Chem.* 54(18):6741-6746.

Lopes P, Silva MA, Pons A, Tominaga T, Lavigne V, Saucier C, Darriet P, Teissedre P-L & Dubourdiou D. 2009. Impact of Oxygen Dissolved at Bottling and Transmitted through Closures on the Composition and Sensory Properties of a Sauvignon Blanc Wine during Bottle Storage. *J. Agric. Food Chem.* 57(21):10261-10270.

Lopez R, Ortin N, Perez-Trujillo JP, Cacho J & Ferreira V. 2003. Impact Odorants of Different Young White Wines from the Canary Islands. *J. Agric. Food Chem.* 51(11):3419-3425.

Luisier J-L, Buettner H, Iker S, Rausis T & Frey U. 2008. Quantification of Cysteine S-Conjugate of 3-Sulfanyhexan- 1-ol in Must and Wine of Petite Arvine Vine by Stable Isotope Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(9):2883-2887.

Lund CM, Thompson MK, Benkwitz F, Wohler MW, Triggs CM, Gardner R, Heymann H & Nicolau L. 2009. New Zealand Sauvignon blanc Distinct Flavor Characteristics: Sensory, Chemical, and Consumer Aspects. *Am. J. Enol. Vitic.* 60(1):1-12.

Maggu M, Winz R, Kilmartin PA, Trought MCT & Nicolau L. 2007. Effect of Skin Contact and Pressure on the Composition of Sauvignon Blanc Must. *J. Agric. Food Chem.* 55(25):10281-10288.

Masneuf-Pomarede I, Mansour C, Murat ML, Tominaga T & Dubourdiou D. 2006. Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blanc wines. *Int. J. Food Microbio.* 108(3):385-390.

Masneuf I, Murat ML, Naumov GI, Tominaga T & Dubourdiou D. 2002. Hybrids *Saccharomyces cerevisiae* x *Saccharomyces bayanus* var-uavrum having a high liberating ability of some sulfur varietal aromas of *Vitis vinifera* Sauvignon blanc wines. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 36:205-212.

Masson G & Schneider R. 2009. Key Compounds of Provence Rose Wine Flavor. *Am. J. Enol. Vitic.* 60(1):116- 122.

Murat M-L, Masneuf I, Darriet P, Lavigne V, Tominaga T & Dubourdieu D. 2001a. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains on the Liberation of Volatile Thiols in Sauvignon blanc Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 52(2):136-139.

Murat M-L, Tominaga T & Dubourdieu D. 2001b. Assessing the Aromatic Potential of Cabernet Sauvignon and Merlot Musts Used to Produce Rose Wine by Assaying the Cysteinylated Precursor of 3-Mercaptohexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* 49:5412-5417.

Murat M-L, Tominaga T, Saucier C, Glories Y & Dubourdieu D. 2003. Effect of Anthocyanins on Stability of a Key Odorous Compound, 3-Mercaptohexan-1-ol, in Bordeaux Rose Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 54(2):135-138.

Murat ML, Tominaga T & Dubourdieu D. 2001c. Impact of some components on Bordeaux rosé and clarets. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 35:99-105.

Nikolantonaki M, Chichuc I, Teissedre P-L & Darriet P. 2009. Reactivity of volatile thiols with polyphenols in a wine-model medium: Impact of oxygen, iron, and sulfur dioxide. *Anal. Chim. Acta* 660(1-2):102-109.

Peyrot des Gachons C, Tominaga T & Dubourdieu D. 2000. Measuring the Aromatic Potential of *Vitis Vinifera* L. Cv. Sauvignon Blanc Grapes by Assaying S-Cysteine Conjugates, Precursors of the Volatile Thiols Responsible for Their Varietal Aroma. *J. Agric. Food Chem.* 48:3387-3391.

Peyrot des Gachons C, Tominaga T & Dubourdieu D. 2002a. Localisation of S-cysteine conjugates in the berry: Effect of skin contact on aromatic potential of *Vitis Vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc must. *Am. J. Enol. Vitic.* 53 (2):144-146.

Peyrot des Gachons C, Tominaga T & Dubourdieu D. 2002b. Sulfur Aroma Precursor Present in S-glutathione Conjugate Form: Identification of S-3-(Hexan-1-ol)-glutathione in Must from *Vitis Vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4076-4079.

Roland A, Schneider R, Charrier F, Cavellier F, Rossignol M & Razungles A. 2010a. Distribution of varietal thiol precursors in skin and pulp for Melon B. and Sauvignon Blanc grapes. *Food Chem.* 125:139–144.

Roland A, Schneider R, Le Guernevé C, Razungles A & Cavellier F. 2010b. Identification and quantification by LC-MS/MS of a new precursor of 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) using stable isotope dilution assay: Elements for understanding the 3MH production in wine. *Food Chem.* 121:847-855.

Roland A, Schneider R, Razungles A & Cavellier F. 2011. Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications. *Chemical Reviews* 111(11):7355-7376.

Roland A, Schneider R, Razungles A, Le Guernevé C & Cavellier F. 2010c. Straightforward synthesis of deuterated precursor to demonstrate the biogenesis of aromatic thiols in wine. *J. Agric. Food Chem.* 58:10684–10689.

Roland A, Vialaret J, Moniatte M, Rigou P, Razungles A & Schneider R. 2010d. Validation of a nano liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the identification and the accurate quantification by isotopic dilution of glutathionylated and cysteinylated precursors of 3-mercaptohexan-1-ol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in white grape juices. *J. Chromatogr. A* 1217:1626-1635.

Roland A, Vialaret J, Razungles A, Rigou P & Schneider R. 2010e. Evolution of S-cysteinylated and S-glutathionylated thiol precursors during oxidation of Melon B. and Sauvignon blanc musts. *J. Agric. Food Chem.* 58(7):4406-4413.

Sarrazin E, Dubourdieu D & Darriet P. 2007. Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chem.* 103(2):536-545.

Sarrazin E, Sinkharuk S, Pons M, Thibon C, Bennetau B & Darriet P. 2010. Elucidation of the 1,3-Sulfanylalcohol Oxidation Mechanism: An Unusual Identification of the Disulfide of 3-Sulfanylhexanol in Sauternes Botrytized Wines. *J. Agric. Food Chem.* 58(19):10606-10613.

Schneider R, Charrier F, Razungles A & Baumes R. 2006. Evidence for an alternative biogenetic pathway leading to 3-mercaptohexanol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wines. *Anal. Chim. Acta* 563(1-2):58-64.

Schneider R, Kotseridis Y, Ray JL, Augier C & Baumes R. 2003. Quantitative determination of sulfur-containing wine odorants at sub parts per billion levels. 2. Development and application of a stable isotope dilution assay. *J. Agric. Food Chem.* 51(11):3243-3248.

Singleton VL, Salgues M, Zaya J & Trousdale E. 1985. Tartaric Acid Disappearance and Conversion to Products of Enzymic Oxidation in Grape Must and Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 36(1):50-56.

Skouroumounis GK, Kwiatkowski MJ, Francis IL, Oakey H, Capone DL, Duncan B, Sefton MA & Waters EJ. 2005. The impact of closure type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years' storage. *Aust. J. Grape Wine R.* 11(3):369-377.

Starkenmann C, Troccaz M & Howell K. 2008. The role of cysteine and cysteine-S conjugates as odour precursors in the flavour and fragrance industry. *Flavour Fragrance J.* 23(6):369-381.

Subileau M, Schneider R, Salmon J-M & Degryse E. 2008a. New Insights on 3-Mercaptohexanol (3MH) Biogenesis in Sauvignon Blanc Wines: Cys-3MH and (E)-Hexen-2-al Are Not the Major Precursors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(19):9230-9235.

Subileau M, Schneider R, Salmon J-M & Degryse E. 2008b. Nitrogen catabolite repression modulates the production of aromatic thiols characteristic of Sauvignon Blanc at the level of precursor transport. *FEMS Yeast Res.* 8:771-780.

Swiegers JH, Francis IL, Herderich MJ & Pretorius IS. 2006. Meeting consumer expectations through management in vineyard and winery: the choice of yeast for fermentation offers great potential to adjust the aroma of Sauvignon Blanc wine. *Austral. NZ Wine Ind.* 21:34-42.

Swiegers JH & Pretorius IS. 2007. Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74:954-960.

Thibon C, Dubourdieu D, Darriet P & Tominaga T. 2009. Impact of noble rot on the aroma precursor of 3-sulfanylhexanol content in *Vitis vinifera* L. cv Sauvignon blanc and Semillon grape juice. *Food Chem.* 114(4):1359-1364.

Thibon C, Marullo P, Claisse O, Cullin C, Dubourdieu D & Tominaga T. 2008. Nitrogen catabolic repression controls the release of volatile thiols by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *FEMS Yeast Res.* 8(7):1076-1086.

Thibon C, Shinkaruk S, Jourdes M, Bennetau B, Dubourdieu D & Tominaga T. 2010. Aromatic potential of botrytized white wine grapes: Identification and quantification of new cysteine-S-conjugate flavor precursors. *Analytica Chimica Acta* 660(1-2):190-196.

Tominaga T, Baltenweck-Guyot R, Gachons CPD & Dubourdieu D. 2000. Contribution of Volatile Thiols to the Aromas of White Wines Made From Several *Vitis vinifera* Grape Varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* 51(2):178-181.

Tominaga T, Darriet P & Dubourdieu D. 1996. Identification of 3-mercaptohexanol acetate, compound having a powerful odor reminiscent of box-tree, involved in the aroma of Sauvignon wines *Vitis* 35:207-210.

Tominaga T, Furrer A, Henry R & Dubourdieu D. 1998a. Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines. *Flavour Fragrance J.* 13(3):159-162.

Tominaga T, Masneuf I & Dubourdieu D. 1995. Mise en évidence d'un S-conjugué de la cystéine, précurseurs d'arôme du Sauvignon. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 29:227-232.