

Thèse présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

SPÉCIALITÉ ŒNOLOGIE

Présentée et soutenue publiquement le 9 Décembre 2015

Par

Lucile ALLAMY

Née le 14 Mai 1987 à Suresnes (92)

**Recherches sur les marqueurs moléculaires de l'arôme de
« fruits cuits » des raisins et des vins rouges issus des
cépages Merlot et Cabernet-Sauvignon**

Approches sensorielle, analytique et agronomique

Membres du jury :

M. K. VAN LEEUWEN, Professeur de l'Université de Bordeaux, France
Mme A. ESCUDERO, Professeur de l'Université de Zaragoza, Espagne
M. R. GOUGEON, Professeur de l'Université de Bourgogne, France
M. P. DARRIET, Professeur de l'Université de Bordeaux, France
M. D. THIEBAUT, Directeur de Recherches, CNRS-ESPCI Paris Tech, France
M. A. PONS, Chargé de Recherches de la société Seguin-Moreau, France

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Examinateur
Directeur de thèse

Remerciements

C'est sous la direction du Docteur Alexandre Pons, au sein de l'équipe du Laboratoire d'Œnologie Générale de la Faculté d'Œnologie de Bordeaux, que ce travail a été réalisé. Je le remercie de la confiance qu'il m'a témoignée en me proposant ce sujet de thèse et en me faisant partager son intérêt pour le vin, les arômes et les sciences analytiques. Il m'a guidée et conseillée pendant ces trois années tout en me laissant une grande liberté. Son expérience et ses compétences scientifiques m'ont beaucoup appris et ont été, avec sa disponibilité, des éléments déterminants pour l'accomplissement de ce travail. Qu'il soit assuré de mon entière reconnaissance.

Monsieur Kees Van Leeuwen, professeur de l'Université de Bordeaux, m'a fait l'immense honneur de présider ce jury de thèse et je lui en suis très reconnaissante.

Madame Ana Escudero, professeur de l'Université de Zaragoza (Espagne), et Monsieur Régis Gougeon, professeur de l'Université de Bourgogne, ont accepté d'évaluer ce travail et d'en être les rapporteurs. J'en suis très honorée et les remercie vivement de l'intérêt porté à mes recherches, des remarques et conseils qu'ils m'ont apportés.

Monsieur le professeur Philippe Darriet, directeur de l'Unité de Recherche Œnologie, m'a fait l'honneur d'accepter de faire partie des membres du jury de ce travail. Je le remercie de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire d'œnologie générale. J'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines d'écoute, de compréhension et à ses encouragements tout au long de ce travail doctoral. Ses conseils m'ont été précieux. Je lui en suis profondément reconnaissante.

Monsieur Didier Thiébaud, directeur de recherches à l'ESPCI-Paris Tech, m'a accueillie durant deux mois au sein de son laboratoire « Sciences Analytiques, Bioanalytiques et Miniaturisation » et a montré un vif intérêt pour mon travail en m'apprenant les principes de la CPG-Comprehensive. Ces jours passés à l'ESPCI ont été pour moi très formateurs. Je le remercie chaleureusement pour ses conseils et ces longues discussions enrichissantes autour du vin. Je suis heureuse qu'il ait accepté de juger cette thèse et regrette que le temps ne m'ait pas permis d'intégrer au manuscrit l'étude de la CPG-Comprehensive.

Je tiens à remercier Monsieur Frédéric Engerer, gérant du Château Latour, pour avoir accepté de financer ces travaux dans le cadre d'une convention CIFRE et toute son équipe pour son accueil sympathique et sa disponibilité lorsque les besoins des travaux me conduisaient à me

rendre sur place. J'exprime particulièrement ma reconnaissance à Hélène Génin pour toutes les compétences œnologiques qu'elle m'a transmises, pour sa confiance et son soutien, le temps qu'elle m'a consacré malgré sa charge de travail, sa gentillesse. Merci à elle d'avoir été présente tout au long de ces trois années de thèse. Un grand merci aussi à Agathe Moly et à Dorian Fages pour nos échanges fructueux et leur importante implication dans la réalisation de mes essais.

Je remercie l'ANRT et la tonnellerie Seguin-Moreau pour leur soutien financier ainsi que les propriétés ayant fourni gracieusement des échantillons, notamment le Château Faugères, les vignobles André Lurton et Jean-Pierre Moueix.

Un très grand merci à Sophie Tempère et Magali Picard pour leurs conseils, leur patience et leur aide concernant l'analyse sensorielle ainsi que le traitement statistique des données de dégustation. Je n'oublie pas les différents panels de dégustateurs, indispensables à la réalisation des études sensorielles. Qu'ils soient remerciés pour leur enthousiasme et leur disponibilité.

Madame Svitlana Poix-Shinkaruk, Ingénieur de recherche Chimiste organicienne à l'ISM de Bordeaux, et Monsieur Morgan Lefloch, Ingénieur chimiste à l'ISM de Bordeaux, ont consacré 3 mois à la recherche de l'identification du nouveau composé. Ces travaux ont été longs et difficiles. Je vous remercie vivement pour votre aide et le grand intérêt que vous avez porté à mes travaux de recherche.

Margaux Cameleyre, Céline Michelet, Adeline Vignault et Thomas Gautier ont consacré du temps de leurs études pour l'avancement de mes travaux. Je leur en suis très reconnaissante et leur souhaite bonne chance pour la suite de leur projet.

Je remercie chaleureusement tous les membres de l'ISVV qu'ils soient permanents, thésards ou stagiaires que j'ai eu beaucoup de plaisir à côtoyer pendant ces trois dernières années.

Enfin, je tiens à remercier amicalement ces personnes qui ont rendu ces trois années plus légères ...

Merci à Pascaline pour ces discussions agricoles les lendemains de notre émission préférée ...
Merci à Takis pour ton soutien et pour m'avoir supportée dans ton bureau notamment lors de la rédaction !!

Merci à RakuStock pour nos rigolades de laboratoire, ton soutien et surtout pour ta présence à ma soutenance qui m'a beaucoup touchée...

Merci à Alexandra, IsaQuito, Kléo, Reyes et Julien (laboratoire du Professeur Pierre-Louis Teissède) pour les infinies discussions des pauses déjeuner, vos potins, votre bonne humeur et votre soutien plus qu'important au cours de cette dernière année ...

Merci à mes amis du laboratoire des procédés : Marie, Sandra et Rémy.

Ma deuxième maman, Sandra, je te remercie pour ton aide précieuse au cours des microvinifications, ton soutien et ton amitié. Mes enfants de cœur, touche Marie et touche Victor, merci pour ces weekends détente, ces bons repas, tous ces moments partagés entre « peuchers » qui m'ont rendue légère pour chaque début de semaine... Merci Marie pour toutes ces « pauses course à pied » à refaire le monde :)

Un immense merci à Nicole (Caroline), Emma (Blandine), Leelou (Laurianne), Patricia (Claire), José (Guillaume), Toutdoux (Vincent). Cette thèse n'aurait pas eu la même saveur sans notre rencontre, nos éclats de rires, nos innombrables soirées « Apollo », vos encouragements perpétuels, votre patience et surtout notre amitié...

Remerciements particuliers à mes deux copains de labo : Jackyboy et Xavier. Merci pour votre folie « perrensoise », ces interminables discussions, nos disputes, nos poti-potins et votre soutien au quotidien dans les bons comme dans les mauvais jours... Jacky, bonne route, nos chemins se recroiseront, je n'en doute pas. Xavier, plein de courage pour les quelques mois restants...

Un grand merci à Alice, Nadia, ainsi qu'à mes amis d'enfance pour votre présence et votre infaillible soutien.

Pour finir, j'adresse tous mes remerciements à mes parents. Merci pour m'avoir « supportée » ces longues années, pour votre soutien sans faille et nos coups de téléphone quotidiens, pour votre réconfort dans mes éternelles remises en question, pour votre optimisme et votre amour.

A toi qui partage ma vie, ton incroyable courage (il t'en a fallu.. !) à me supporter au quotidien dans les moments difficiles, ta patience, ton réconfort gastronomique et (raisonnablement) œnologique après ces longues journées de laboratoire et bien sur, ton amour, m'ont permis d'arriver au bout avec plus de sérénité... merci ADMV.

Valorisation des travaux de recherche

Communications orales au cours de congrès internationaux

Allamy, L. ; Darriet, P. ; Pons, A. Research on molecular markers of « dried fruit » aroma in grapes and red wines of Merlot and Cabernet-Sauvignon. **Oeno 2015, Bordeaux, France, June 29 – July 1, 2015.**

Allamy, A. ; Darriet, P. ; Pons, A. Identification of « dried fruits » molecular markers found in Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes and red wines. **Macrowine 2016, Nyon, Suisse, June 30, 2016.**

Darriet, P. ; Pons, A. ; Allamy, L. ; Schüttler, A. ; Van Leeuwen, C. ; Thibon, C. Quels impacts attendus du changement climatique sur les composés aromatiques et leurs précurseurs ? **Les 3^{èmes} assises des vins du Sud-Ouest, Toulouse, France, January 14, 2016.**

Communications affichées au cours de congrès internationaux

Allamy, L. ; Pons, A. ; Darriet, P. Effect of harvest date on the aroma of Merlot and Cabernet-Sauvignon musts and wines : analytical and sensory approaches. **19^{èmes} journées Internationales du Giesco, Montpellier, France, May 31-June 5, 2015.**

Allamy, L. ; Darriet, P. ; Pons, A. Identification of « dried fruits » molecular markers found in Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes and red wines. **ClimWine, Bordeaux, France, April 10-13, 2016.**

Publications

Allamy, L. ; Darriet, P. ; Pons, A. Identification and organoleptic contribution of (Z)-1,5-octadien-3-one to the flavor of *Vitis vinifera* cv. Merlot and Cabernet Sauvignon Musts. **Journal of agricultural and food chemistry. Novembre 2016. Article soumis.**

Allamy, L. ; Darriet, P. ; Pons, A. Characterization of dried fruits aroma compounds found in Merlot and Cabernet-Sauvignon musts and wines from Bordeaux Region. **Article en cours de redaction.**

Pons, A. ; Allamy, L. ; Lavigne, V. ; Darriet, P. ; Dubourdieu, D. Study of contribution of massoia lactone to the flavor of grapes and red wines. **Journal of agricultural and food chemistry**. Novembre 2016. Article soumis.

Pons, A. ; Allamy, L. ; Mansour, C. ; Louazil, P. ; Moine, V. ; Dubourdieu, D. ; Coulon, J. Incidence de la date de récolte sur la stabilité microbiologique et l'arôme des moûts et des vins – Exemple du Cabernet-Sauvignon. **Revue des œnologues**, n°155, Avril 2015.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	2
TABLE DES FIGURES.....	6
TABLE DES TABLEAUX	12
INTRODUCTION GENERALE	16
PARTIE 1.....	22
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	22
I. MERLOT ET CABERNET-SAUVIGNON DE LA REGION BORDELAISE.....	24
1. <i>Historique, répartition, état des lieux des deux cépages</i>	24
2. <i>Notion de maturation et sur-maturation des raisins</i>	24
II. COMPOSITION DE LA FRACTION VOLATILE ODORANTE DES RAISINS ET DES VINS ROUGES.....	26
1. <i>Composante aromatique du raisin</i>	26
a) Composés terpéniques.....	27
b) Caroténoïdes et C-13 norisoprénoïdes.....	29
c) Méthoxyypyrazines.....	30
d) Aldéhydes, alcools (C6).....	31
2. <i>Composante aromatique du vin rouge</i>	32
a) Arôme variétal.....	32
b) Arôme fermentaire.....	32
i. Alcools supérieurs.....	33
ii. Esters.....	33
iii. Thiols.....	35
c) Arôme tertiaire.....	36
i. Modification aromatique au cours de l'élevage en barrique.....	36
ii. Evolution aromatique au cours du vieillissement en bouteille.....	37
iii. Elevage oxydatif.....	38
3. <i>Connaissances actuelles sur les marqueurs moléculaires de l'arôme de fruits cuits des raisins et des vins rouges</i>	38
III. METHODES D'ANALYSE DES COMPOSES VOLATILS ODORANTS.....	41
1. <i>Méthodes d'extraction</i>	41
a) Extraction liquide-liquide.....	41
b) Micro-extraction sur phase solide (SPME).....	42
2. <i>Méthodes de séparation et d'identification des composés volatils</i>	43
a) La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	43
b) Détection des zones odorantes par Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O)...	44
c) Identification des zones odorantes par Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse et à l'olfactométrie (CPG-CPG-SM-O).....	44
IV. ANALYSE SENSORIELLE.....	45
1. <i>Epreuves discriminatives</i>	46
2. <i>Epreuves descriptives</i>	46
3. <i>Epreuves hédoniques</i>	47
PARTIE 2.....	48
MATERIELS ET METHODES	48
I. ANALYSE DES COMPOSES VOLATILS.....	50
1. <i>Produits chimiques employés</i>	50
2. <i>Techniques d'extraction</i>	50
a) L'extraction liquide-liquide de moût ou de vin.....	50
b) La micro extraction sur phase solide (SPME).....	51

3.	<i>Analyse par chromatographie en phase gazeuse</i>	52
a)	La chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie.....	52
b)	Calcul des indices de rétention linéaire (IRL).....	52
c)	Identification des composés volatils par CPG-O-MS.....	53
d)	Dosage des furanones, de la massoia lactone et de l'abhexone.....	54
e)	Dosage des lactones et de la 3-méthyl-2,4-nonanedione.....	54
f)	Dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one.....	55
g)	Séparation des énantiomères des lactones par chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse (CPG-CPG-SM).....	56
h)	Séparation et identification des composés volatils par chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse (CPG-CPG-SM).....	57
II.	INCIDENCE DU SO ₂ SUR LES TENEURS EN FURANEOL ET (Z)-1,5-OCTADIEN-3-ONE.....	58
III.	PREPARATION DES MILIEUX MODELES DE MOUT (MS).....	59
IV.	PROTOCOLE DE PREPARATION DE BAIES SUR-MURIES EN CONDITIONS CONTROLEES AU LABORATOIRE....	59
V.	PROTOCOLES DE NANO ET MICRO-VINIFICATIONS AU LABORATOIRE.....	61
1.	<i>Nano-vinifications au laboratoire des moûts issus de raisins sur-muris artificiellement</i>	61
a)	Préparation des milieux à base de moût naturel.....	61
b)	Fermentation alcoolique (FA).....	62
2.	<i>Micro-vinifications au laboratoire</i>	62
VI.	EXPERIENCES EN CHAMP.....	63
1.	<i>Millésime 2012</i>	63
2.	<i>Millésime 2014</i>	64
VII.	ANALYSES SENSORIELLES.....	66
1.	<i>Conditions expérimentales et paramètres généraux</i>	66
2.	<i>Epreuves discriminatives</i>	66
a)	Détermination des seuils de perception.....	66
b)	Tests triangulaires.....	68
3.	<i>Epreuves descriptives</i>	69
a)	Détermination de profils sensoriels.....	69
b)	Evaluation de l'intensité des odeurs de « fruits cuits » dans les vins.....	69
PARTIE 3		72
CARACTERISATION DES ZONES ODORANTES ASSOCIEES A L'AROME DE FRUIT CUIT DES MOÛTS ET DES VINS		72
CHAPITRE 1		74
ETUDE DE LA CONTRIBUTION DES NUANCES FRUITS CUIITS A LA TYPICITE AROMATIQUE DES VINS D'UNE APPELLATION BORDELAISE		74
I.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE – NOTION DE TYPICITE.....	76
1.	<i>Définition de la typicité</i>	76
2.	<i>Exemples de travaux sur la typicité des vins</i>	78
II.	ETUDE DE LA TYPICITE D'UNE APPELLATION BORDELAISE (A).....	81
1.	<i>Choix des vins</i>	81
2.	<i>Recrutement du panel de dégustateur</i>	84
3.	<i>Déroulement de l'analyse sensorielle</i>	84
4.	<i>Résultats</i>	86
III.	RECHERCHE DE L'EXISTENCE D'UN CONSENSUS ENTRE LES EXPERTS POUR EXPRIMER L'EXISTENCE D'UNE TYPICITE DES VINS DE L'APPELLATION A.....	87
1.	<i>Etude de la variabilité du système de notation des dégustateurs</i>	87
2.	<i>Recherche de l'existence d'un consensus autour de la notion de typicité de l'appellation A</i>	88
IV.	ETUDE DE LA REPARTITION DE L'ENSEMBLE DES VINS SELON LEUR TYPICITE.....	89
3.	<i>Discussion</i>	90

V.	CORRELATIONS ENTRE TYPICITE ET DESCRIPTEURS OLFACTIFS	90
VI.	ETUDE PARTICULIERE DE LA PERCEPTION DU CARACTERE FRUIT CUIT DU VIN OXYDE EN LIEN AVEC LA NOTION DE TYPICITE	93
VII.	CONCLUSION	95
CHAPITRE 2.....		98
RECHERCHE DE ZONES ODORANTES CARACTERISTIQUES DES MOUTS ET DES VINS ROUGES MARQUES PAR DES ODEURS DE FRUITS CUIITS PAR CPG-O		98
I.	ORIGINE DES ECHANTILLONS DE MOUT ET DE VIN.....	100
II.	PARAMETRES OPERATOIRES DE L'ANALYSE PAR CPG-O	102
1.	<i>Préparation et conditions d'analyse des échantillons</i>	102
2.	<i>Choix de la colonne chromatographique</i>	102
III.	EXEMPLE D'AROMAGRAMMES OBTENUS A PARTIR D'EXTRAITS ORGANIQUES DE MOUTS MARQUES OU NON PAR DES NUANCES DE FRUITS CUIITS.....	103
IV.	EXEMPLE D'AROMAGRAMMES OBTENUS A PARTIR D'EXTRAITS ORGANIQUES DE VINS MARQUES OU NON PAR DES NUANCES DE FRUITS CUIITS.....	105
V.	DISCUSSION	107
VI.	INCIDENCE DU PASSERILLAGE SUR LA FORMATION DES ZONES ODORANTES D'INTERET.....	110
1.	<i>Protocole expérimental</i>	110
2.	<i>Résultats</i>	111
VII.	CONCLUSION	113
CHAPITRE 3.....		114
IDENTIFICATION DES COMPOSES VOLATILS ASSOCIES AUX ZONES ODORANTES D'INTERET.....		114
I.	METHODOLOGIE	116
II.	RESULTATS	116
III.	TENTATIVES D'IDENTIFICATION DU COMPOSE ASSOCIE A LA ZO19 (C-ZO19).....	119
1.	<i>Données chromatographiques et spectrales</i>	119
2.	<i>Distribution dans les moûts et les vins</i>	119
3.	<i>Détermination de la formule brute</i>	121
4.	<i>Mise en évidence de propriétés optiques particulières</i>	123
5.	<i>Tentatives d'identification du C-ZO19 : étude de la fragmentation</i>	123
a)	Hypothèses de travail	123
b)	Recherche de candidats potentiels.....	124
c)	Synthèse de composés odorants	126
IV.	CONCLUSION	128
CHAPITRE 4.....		130
LES COMPOSES FURANIQUES		130
I.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	132
1.	<i>Le furanéol (ZO2)</i>	132
2.	<i>L'homofuranéol (ZO3)</i>	134
II.	OPTIMISATION DES CONDITIONS D'ANALYSES DU FURANEOL ET DE L'HOMOFURANEOL EN CPG-SM	136
1.	<i>Le dosage du furanéol et de l'homofuranéol</i>	136
2.	<i>Optimisation des paramètres de température d'injection</i>	136
3.	<i>Optimisation des paramètres de spectrométrie de masse</i>	138
4.	<i>Courbes de calibration</i>	139
III.	ETUDES SENSORIELLES SUR LE FURANEOL ET L'HOMOFURANEOL	140
1.	<i>Seuils de perception du furanéol et de l'homofuranéol</i>	140

2.	<i>Effet d'additivité de l'homofuranéol sur le furanéol</i>	141
IV.	DOSAGES DANS LES MOÛTS ET LES VINS ROUGES	142
V.	RECHERCHE D'UNE VOIE DE FORMATION DU FURANEOL ET DE L'HOMOFURANEOL DANS LES MOÛTS.....	145
1.	<i>Incidence de la température sur la formation du furanéol et de l'homofuranéol dans un moût</i>	146
a)	Protocole expérimental.....	146
b)	Résultats.....	146
2.	<i>Recherche des précurseurs à l'origine de la formation du furanéol et de l'homofuranéol dans les moûts</i>	147
a)	Protocole expérimental.....	147
b)	Résultats.....	148
VI.	INCIDENCE DU DIOXYDE DE SOUFRE (SO ₂) SUR LES TENEURS EN FURANEOL DANS LES MOÛTS ET LES VINS	149
VII.	CONCLUSION	150
CHAPITRE 5.....		152
LES LACTONES		152
I.	ETUDE DE L'ABHEXONE (ZO4)	154
1.	<i>Etude bibliographique</i>	154
2.	<i>Analyses quantitatives de l'abhexone</i>	154
II.	ETUDE DES γ -LACTONES : γ -NONALACTONE (ZO10) ET γ -DECALACTONE (ZO12).....	155
1.	<i>Etude bibliographique</i>	155
2.	<i>Dosages de la γ-nonalactone dans les moûts et les vins</i>	158
3.	<i>Dosages de la γ-décalactone dans les moûts et les vins</i>	159
a)	Recherche d'une voie de formation de la γ -nonalactone	160
b)	Protocole expérimental.....	162
c)	Etude de la contribution de l'acide linoléique à la formation de la γ -nonalactone dans les moûts	162
d)	Étude de la contribution de l'acide linoléique à la formation de la γ -nonalactone au cours de la fermentation alcoolique.....	163
III.	ETUDE DE LA MASSOIA LACTONE (ZO20).....	164
1.	<i>Etude bibliographique</i>	164
2.	<i>Optimisation des conditions d'analyse</i>	164
a)	Optimisation du protocole d'extraction.....	164
b)	Courbes de calibration.....	166
3.	<i>Analyses quantitatives de la massoia lactone dans les moûts et les vins</i>	166
4.	<i>Incidence de la fermentation alcoolique sur les teneurs en massoia lactone</i>	167
a)	Protocole expérimental.....	167
b)	Résultats.....	168
5.	<i>Recherches sur le précurseur de la massoia lactone</i>	169
a)	Protocole expérimental.....	170
b)	Résultats.....	170
IV.	CONCLUSION	170
CHAPITRE 6.....		172
LES CETONES		172
I.	ETUDE DE LA (Z)-1,5-OCTADIEN-3-ONE (ZO18)	174
1.	<i>Etude bibliographique</i>	174
2.	<i>Optimisation des conditions d'analyses de la (Z)-1,5-octadien-3-one</i>	175
a)	Caractéristiques chromatographiques.....	175
b)	Optimisation des paramètres d'extraction	179
c)	Optimisation des conditions d'analyse en spectrométrie de masse (trappe à ions).....	182
d)	Courbes de calibration dans le moût	183
3.	<i>Détermination des seuils de perception</i>	184

4.	<i>Dosages dans les moûts</i>	184
5.	<i>Etude de l'impact organoleptique de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts</i>	187
6.	<i>Incidence du dioxyde de soufre (SO₂) sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one des moûts</i>	188
II.	ETUDE DE LA 3-METHYL-2,4-NONANEDIONE (ZO6 ET ZO9).....	190
1.	<i>Etude bibliographique</i>	190
2.	<i>Dosages dans les moûts et les vins</i>	191
III.	CONCLUSION.....	192
CHAPITRE 7.....		194
ETUDE SENSORIELLE ET ANALYTIQUE DE VINS EVOQUANT DES NUANCES DE FRUITS CUIITS.....		194
I.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL – SELECTION DE VINS.....	196
II.	RESULTATS DE L'ANALYSE SENSORIELLE.....	197
1.	<i>Consensus entre les experts pour le jugement des nuances de fruits cuits</i>	198
2.	<i>Consensus entre les experts pour le jugement des nuances d'oxydation</i>	198
3.	<i>Profils sensoriels</i>	199
4.	<i>Etude de la contribution des composés volatils aux nuances fruits cuits et oxydées des vins</i>	201
III.	MISE EN EVIDENCE DE LA CONTRIBUTION DU FURANEOL, DE L'HOMOFURANEOL, DE LA Γ -NONALACTONE ET DE LA MND A L'AROME DES VINS MARQUES PAR DES NUANCES DE FRUITS CUIITS.....	203
1.	<i>Sélection des marqueurs analytiques</i>	203
2.	<i>Protocole expérimental</i>	205
3.	<i>Résultats</i>	206
IV.	CONCLUSION.....	207
PARTIE 4.....		208
INFLUENCE DES PARAMETRES AGRONOMIQUES SUR LA FORMATION DES ODEURS DE FRUITS CUIITS DES MOULTS ET DES VINS.....		208
CHAPITRE 8.....		210
ETUDE DE L'EXPOSITION A LA LUMIERE AU COURS DU PASSERILLAGE DES BAIIES SUR L'AROME DES MOULTS ET DES VINS.....		210
I.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	212
II.	INCIDENCE DU PASSERILLAGE AU LABORATOIRE SUR LA PHYSIONOMIE DES BAIIES.....	213
III.	INDIDENCE DU PASSERILLAGE SUR LA COMPOSITION DES MOULTS ET DES VINS DE MERLOT ET DE CABERNET-SAUVIGNON.....	214
IV.	INCIDENCE DE LA PRESENCE DE LUMIERE AU COURS DU PASSERILLAGE DES BAIIES SUR L'EXPRESSION AROMATIQUE DES MOULTS ET DES VINS DE MERLOT ET DE CABERNET-SAUVIGNON.....	215
1.	<i>Résultats de l'analyse sensorielle des moûts</i>	215
2.	<i>Résultats de l'analyse sensorielle des vins</i>	217
V.	INCIDENCE DE LA PRESENCE DE LUMIERE AU COURS DU PASSERILLAGE DES BAIIES SUR LES TENEURS EN COMPOSES VOLATILS DES MOULTS ET DES VINS DE MERLOT ET DE CABERNET-SAUVIGNON.....	218
1.	<i>La 3-methyl-2,4-nonanedione</i>	218
2.	<i>Les furanones</i>	220
3.	<i>Les lactones</i>	221
4.	<i>La massoia lactone</i>	222
5.	<i>La (Z)-1,5-octadien-3-one</i>	222
6.	<i>Le composé associé à la ZO19 (C-ZO19)</i>	223
7.	<i>Conclusion</i>	224
VI.	INCIDENCE DU PASSERILLAGE DES BAIIES SUR LA DISTRIBUTION DES ENANTIOMERES DES LACTONES DANS LES MOULTS ET LES VINS.....	225

1.	<i>Détermination de la configuration absolue des lactones et aspects analytiques</i>	225
2.	<i>Distribution des énantiomères des lactones dans les moûts et les vins issus de raisins passerillés</i> ..	227
a)	La γ -nonalactone.....	228
b)	La δ -décalactone.....	229
c)	Discussion.....	230
3.	<i>Détermination des seuils de perception, individuels ou en mélanges, des énantiomères de la γ-nonalactone</i>	231
VII.	CONCLUSION.....	233
CHAPITRE 9.....		236
INCIDENCE DE LA DATE DE RECOLTE DES RAISINS DE MERLOT ET DE CABERNET-SAUVIGNON SUR L'AROME DES MOÛTS ET DES VINS - EXPERIENCES EN CHAMP		
236		
I.	INCIDENCE DE LA DATE DE RECOLTE : CAS DES RAISINS DE CABERNET-SAUVIGNON – MILLESIME 2012	238
1.	<i>Le climat du millésime 2012 à Bordeaux</i>	238
2.	<i>Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des moûts et des vins</i>	239
3.	<i>Incidence de la date de récolte des raisins sur l'expression aromatique des moûts et des vins</i>	240
4.	<i>Incidence de la date de récolte des raisins sur les teneurs en composés volatils des moûts et des vins</i> 241	
5.	<i>Analyses en composantes principales</i>	243
II.	INCIDENCE DE LA DATE DE RECOLTE : CAS DES RAISINS DE MERLOT ET DE CABERNET-SAUVIGNON – MILLESIME 2014	244
1.	<i>Le climat du millésime 2014 à Bordeaux</i>	244
2.	<i>Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des moûts et des vins</i>	245
3.	<i>Incidence de la date de récolte des raisins sur l'expression aromatique des moûts et des vins</i>	247
a)	Les moûts et les vins de Cabernet-Sauvignon.....	247
b)	Les moûts et les vins de Merlot.....	248
4.	<i>Incidence de la date de récolte sur les teneurs en composés volatils dans les moûts et les vins</i>	249
a)	Dosages des lactones.....	250
i.	La γ -nonalactone	250
ii.	La massoia lactone	251
b)	Dosages du composé C-ZO19.....	252
c)	Dosages des furanones	253
i.	Le furanéol	253
ii.	L'homofuranéol.....	254
d)	Dosages de la MND	255
III.	CONCLUSION	256
CHAPITRE 10.....		260
INCIDENCE DE LA VINIFICATION DE QUANTITES CROISSANTES DE BAIES FLETRIES SUR L'AROME DES VINS. OBSERVATIONS SUR SON EVOLUTION AU COURS DU VIEILLISSEMENT EN BOUTEILLE		
260		
I.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL	262
II.	INCIDENCE DE LA PRESENCE DE BAIES FLETRIES SUR LA COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS	263
III.	ANALYSES SENSORIELLES DES VINS.....	264
IV.	APPROCHE ANALYTIQUE DE L'ETUDE DE L'INCIDENCE DE LA PRESENCE DE BAIES FLETRIES SUR L'AROME DES MOÛTS ET DES VINS	267
1.	<i>La 3-methyl-2,4-nonanedione (MND)</i>	267
2.	<i>Les lactones</i>	268
3.	<i>Les furanones</i>	270
4.	<i>Le composé associé à la ZO19 (C-ZO19)</i>	272
V.	ANALYSES EN COMPOSANTES PRINCIPALES DES DONNEES SENSORIELLES ET QUANTITATIVES	272

VI. CONCLUSION	275
CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES	276
ANNEXES.....	284
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	300

LISTE DES ABREVIATIONS

(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfate d'ammonium
3-AFC	3 – Alternative Forced Choice, 3 – Alternatives à Choix Forcé
A	Appellation A
A	Amarone
ACP	Analyse en composantes principales
AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis
AFNOR	Association Française de Normalisation
AOC	Appellation d'Origine Contrôlée
C	Corvina
CAR	Carboxen
CF	Cabernet franc
CHARM	Combined Hedonic Aroma Response Measurement
CI	Ionisation chimique
CLHP	Chromatographie liquide haute pression
CO ₂	Dioxyde de carbone
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG-CPG	Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle
CPGxCPG	Chromatographie en phase gazeuse compréhensive
CS	Cabernet-Sauvignon
C-ZO19	Composé associé à la zone odorante n°19
DMS	Sulfure de diméthyle
DVB	Divinylbenzene
EI	Impact électronique
EN	Norme Européenne
EtOH	Ethanol absolu
eV	électron volt
F1	Axe 1 (ACP)
F2	Axe 2 (ACP)
FA	Fermentation alcoolique
FC	Fruits cuits

FFA	Furan Fatty Acids
FID	Flamme Ionisation Dectector – Détecteur à ionisatio de flamme
FML	Fermentation malolactique
FPD	Détecteur à photométrie de flamme
G	Grenache
HA	Hors Appellation A
HA-BX	Vin Hors Appellation – Bordeaux
HA-C	Vin Hors Appellation - Californie
HA-FR	Vin Hors Appellation – Languedoc Roussillon
HA-L	Vin Hors Appellation – Limitrophe de l'appellation A
He	Helium
IA	Indice aromatique
IBMP	2-methoxy-3-isobutyl-pyrazine
IRL	Indice linéaire de rétention
ISVV	Institut des Sciences de la Vigne et du Vin
L-	Baies passerillées dans l'obscurité
L+	Baies passerillées à la lumière
M	Merlot
MND	3-methyl-2,4-nonanedione
MO	Molinara
MS	Moût synthétique
NA	Negro Amaro
Na ₂ SO ₄	Sulfate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NF	Norme Française
NIF	Nasal Impact Frequency
NPD	Détecteur thermoionique
O	Olfactométrie
OAV	Odor Activity Value
PDMS	Polydimethylsiloxane
PV	Petit Verdot
R	Rondinella
R	Forme énantiomérique R

RMN	Résonnance magnétique nucléaire
S	Forme énantiomérique S
SH	Solution hydroalcoolique
SIM	Selected Ion Monitoring
SIS	Selected Ion Storage
SM	Spectromètre de masse
SNIF	Surface od Nasal Impact Frequency
Sp	Seuil de perception
SPME	Solid-Phase Microextraction
TAV	Titre Alcoométrique Volumique
T _{eb}	Température ébullition
Tem	Baies témoin
TOF	Spectromètre de masse temps de vol
Tr	Temps de rétention
V-C	Vin cuit (évoquant des odeurs de fruits cuits)
V-FC	Vin évoquant des odeurs de fruits cuits
VS	Vin synthétique
V-T	Vin témoin
Z	Zinfandel
ZO	Zone odorante

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Structures chimiques des monoterpénols: linalol (A), nérol (B), α -terpinéol (C), géraniol (D), citronellol (E).....	28
Figure 2 : Structure chimique de la rotundone	28
Figure 3 : Structures chimiques de la β -damascénone (A) et de la β -ionone (B).....	30
Figure 4 : Structure chimique de la 2-methoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP)	31
Figure 5 : Structure chimique du 2-phényléthanol	33
Figure 6 : Formules développées des esters éthyliques d'acides gras d'origine fermentaire. A : hexanoate d'éthyle, B : octanoate d'éthyle, C : décanoate d'éthyle.....	34
Figure 7 : Structures chimiques des esters acétiques d'alcools supérieurs. A : acétate d'isoamyle, B : acétate de 2-phényléthanol	35
Figure 8 : Structure chimique du lactate d'éthyle	35
Figure 9 : Structures chimiques des composés volatils issus du bois de chêne. A : eugénol, B : furfural, C : vanilline, D : furfuryl thiol, E : <i>cis</i> -whisky lactone, F : <i>trans</i> -whisky lactone	37
Figure 10 : Structure chimique du sulfure de diméthyle ou DMS.....	38
Figure 11 : Structure chimique de la massoia lactone.....	40
Figure 12 : Structures chimiques du phénylaldéhyde (A) et du méthional (B).....	41
Figure 13 : Médianes, écarts interquartiles et étendue des notes de typicité attribuées par les sujets (S) pour les vins dégustés en 2013	87
Figure 14 : Cercle de corrélation des ACP pour le jugement de la typicité des vins en 2013.....	88
Figure 15 : Carte d'individus (vins) jugés selon les nuances de typicité	90
Figure 16 : Cercle de corrélation de l'ACP pour le jugement de la typicité et la matrice moyenne des intensités des descripteurs fruits frais, fruits cuits, végétal, boisé (variables supplémentaires) des vins	91
Figure 17 : Cercles de corrélation entre les jugements de la typicité (en rouge – Variables) et du caractère fruits cuits (FC, A) et fruits frais (FF, B) (en bleu – Variables supplémentaires) des vins....	92
Figure 18 : Carte d'individus (vins) jugés selon les nuances de fruits cuits	94
Figure 19 : Moyennes des notes de typicité obtenues par le groupe 1 (n=5) et le groupe 2 (n=25).....	95
Figure 20 : Spectre de fragmentation (EI, 70 eV) du C-ZO19 (CPG-TOF-SM).....	119
Figure 21 : Exemple de chromatogramme d'un moût témoin et d'un moût rappelant l'odeur des fruits cuits (m/z 99)	120
Figure 22 : Comparaison de la distribution des rapports de l'aire du composé C-ZO19 (Aci) sur l'aire de l'étalon interne (Aei) des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (représentation en « boîte à moustaches » de Tukey).....	121
Figure 23 : Spectre de masse (CI, NH ₄) du composé C-ZO19.....	122
Figure 24 : Séparation des énantiomères du composé C-ZO19 à l'aide d'une colonne chirale par CPG-bidimensionnelle (m/z 99)	123
Figure 25 : Spectre de fragmentation (EI, 70 eV) du methyl tuberate en CPG-SM (trappe à ions)....	126
Figure 26 : Spectre de fragmentation (EI, 70eV) du 4-methyl-4-nonanolide (trappe à ions)	127
Figure 27 : Incidence des variations de température de l'injecteur sur l'intensité du signal en mode SIM. Les ions utilisés pour la quantification (m/z) sont : Furanéol (A) : 128, Homofuranéol (B) : 142, Ethyl maltol (C) : 140. Température source : 200°C - n=8.....	137

Figure 28 : Incidence des variations de température de la source d'ionisation sur l'intensité du signal en mode SIM. Les ions utilisés pour la quantification (m/z) sont : Furanéol (A) : 128, Homofuranéol (B) : 142, Ethyl maltol (C) : 140 - n=8 - T_{inj} 150°C	138
Figure 29 : Comparaison de la distribution des teneurs en furanéol des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC).....	144
Figure 30 : Comparaison de la distribution des teneurs en homofuranéol des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC)	145
Figure 31 : Evolution des teneurs en furanéol (A) et en homofuranéol (B) dans un moût de Merlot placé dans une étuve à 80°C au cours du temps. n=2 - nd : non détecté.....	147
Figure 32 : Teneurs en furanéol dans les moûts modèles après chauffage à 80°C pendant 13 jours (T0=témoin non chauffé ; T=témoin ; X=xylose ; R=rhamnose ; G=glycine ; A=alanine). nd : non détecté. n=2	149
Figure 33 : Teneurs en homofuranéol dans les moûts modèles après chauffage à 80°C pendant 13 jours (T0 = témoin non chauffé ; T=témoin ; X=xylose ; R=rhamnose ; G=glycine ; A=alanine). nd : non détecté. n=2	149
Figure 34 : Incidence du sulfitage sur les teneurs en furanéol dans un milieu modèle de moût (A) et dans un milieu modèle de vin (B)	150
Figure 35 : Atome de carbone asymétrique des γ et δ -lactones (Dufossé <i>et al.</i> , 1994).....	156
Figure 36 : Comparaison de la distribution des teneurs en γ -nonalactone des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC)	159
Figure 37 : Comparaison de la distribution des teneurs en γ -déalactone des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC)	160
Figure 38 : Formation de la γ -nonalactone lors de l'élaboration de la bière (Tressl <i>et al.</i> , 1978).....	161
Figure 39 : Structure chimique de l'acide linoléique	162
Figure 40 : Incidence de la fermentation alcoolique sur la formation de la γ -nonalactone dans un milieu modèle témoin (Témoin) ou supplémenté avec 10mg/L d'acide linoléique (+ Acide Linoléique). nd : non détecté.....	163
Figure 41 : Comparaison de la distribution des teneurs en massoia lactone des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC).....	167
Figure 42 : Evolution de la massoia lactone et de la δ -déalactone au cours de la fermentation alcoolique dans un milieu modèle de moût supplémenté (38 μ g/L, MS + Massoia) ou non en massoia lactone (MS) - n = 2	169
Figure 43 : Formules développées de la massoia lactone (A) et de la δ -déalactone (B)	169
Figure 44 : Formule développée de l'acide ricinoléique	170
Figure 45 : Chromatogramme (A) et spectres de fragmentation du pic 1 (B) et du pic 2 (C) de la (Z)-1,5-octadien-3-one obtenus par impact électronique en mode SCAN	177
Figure 46 : Spectre de fragmentation de la (Z)-1,5-octadien-3-one (Pic 1) obtenu par ionisation chimique (CI, MeOH) en mode SCAN (m/z 75-200).....	178
Figure 47 : Exemple de chromatographie d'un échantillon de moût supplémenté avec la (Z)-1,5-octadien-3-one et analysé en CPG-SM CI (m/z 125) sur colonne polaire (BP20). Pic 1 et Pic 2 : formes tautomères	179
Figure 48 : Diagramme de Pareto des effets des paramètres d'extraction du moût (SPME) pour l'optimisation de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one	181
Figure 49 : Diagramme de Pareto des effets des paramètres d'extraction du vin (SPME) pour l'optimisation de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one	182
Figure 50 : Exemple de chromatogrammes d'un moût issu de raisins à maturité et d'un moût issu de raisins sur-muris (m/z 125).....	186

Figure 51 : Comparaison de la distribution des teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one des moûts marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)	186
Figure 52 : Evolution de l'intensité moyenne du descripteur figue retrouvés dans les moûts selon la teneur en (Z)-1,5-octadien-3-one. Les lettres « a » et « b » correspondent aux résultats de l'ANOVA ($\alpha=0,05$).....	188
Figure 53 : Evolution de l'intensité moyenne du descripteur géranium retrouvés dans les moûts selon la teneur en de (Z)-1,5-octadien-3-one. Les lettres « a », « b » et « c » correspondent aux résultats de l'ANOVA ($\alpha=0,05$).....	188
Figure 54 : Incidence du sulfitage sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one dans un milieu modèle de moût (A) et un milieu modèle de vin (B). n=2.....	189
Figure 55 : Tautomérisme céto-énolique de la 3-méthyl-2,4-nonanedione.....	190
Figure 56 : Comparaison de la distribution des teneurs en MND des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC).....	192
Figure 57 : Représentation de l'ACP des variables (jugement de l'intensité des nuances de fruits cuits) (A) et des individus (vins) (B).....	198
Figure 58 : Représentation de l'ACP des variables (jugement de l'intensité des nuances d'oxydation) (A) et des individus (vins) (B).....	199
Figure 59 : Intensités moyennes des nuances de fruits cuits retrouvées dans les vins. Les résultats de l'analyse statistique (ANOVA) sont représentés par les lettres « a » et « b » ($\alpha=0,05$).....	200
Figure 60 : Intensités moyennes des nuances d'oxydation retrouvées dans les vins. Les résultats de l'analyse statistique (ANOVA) sont représentés par les lettres « a », « b » et « c » ($\alpha=0,05$).....	201
Figure 61 : Analyse en composantes principales des composés volatils (variables actives) avec les descripteurs de l'analyse sensorielle (variables supplémentaires).	203
Figure 62 : Concentrations moyennes en MND (ng/L), γ -nonalactone ($\mu\text{g/L}$), massoia lactone ($\mu\text{g/L}$), furanéol ($\mu\text{g/L}$), homofuranéol ($\mu\text{g/L}$) et δ -déalactone ($\mu\text{g/L}$) retrouvées dans les vins témoins (V-Témoin, n=5) et les vins fruits cuits (V-Cuit, n=11).....	204
Figure 63 : Intensités moyennes des nuances de fruits cuits dans les 4 reconstitutions aromatiques et traitement statistique par une ANOVA ($\alpha=0,05$).	207
Figure 64 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts issus de raisins de Merlot conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle. Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21.....	216
Figure 65 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts issus de raisins de Cabernet-Sauvignon conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle. Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21.....	216
Figure 66 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des vins issus de raisins de Merlot conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle. Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21	217
Figure 67 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des vins issus de raisins de Cabernet-Sauvignon conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21.....	218
Figure 68 : Profil de séparation de la γ -nonalactone commerciale racémique en CLHP sur colonne chirale.....	226

Figure 69 : Exemple de séparation des énantiomères de la γ -nonalactone (A), δ -décalactone (B) et de la massoia lactone par couplage CPG-CPG-SM (colonne chirale) d'un extrait d'un échantillon de moût.....	227
Figure 70 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Merlot sur la distribution énantiomérique de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins. n=2	229
Figure 71 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Cabernet-Sauvignon sur la distribution énantiomérique de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins. n=2	229
Figure 72 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Merlot sur la distribution énantiomérique de la δ -décalactone dans les moûts et les vins. n=2.....	230
Figure 73 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Cabernet-Sauvignon sur la distribution énantiomérique de la δ -décalactone dans les moûts et les vins. n=2	230
Figure 74 : Incidence de la date de récolte des raisins sur les moyennes des intensités des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits retrouvées dans les vins. Les lettres « a » et « b » correspondent aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$).....	241
Figure 75 : Incidence de la date de récolte des raisins sur les teneurs en furanéol (A), homofuranéol (B), γ -nonalactone (C), massoia lactone (D), MND (E) et composé C-ZO19 (F) des moûts et des vins. Les lettres « a » et « b » correspondent aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=2	242
Figure 76 : Analyse en composantes principales (ACP) - Variables actives : Intensités des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits. Variables supplémentaires : composés volatils.	244
Figure 77 : Intensités moyennes des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts (A) et des vins (B) de Cabernet-Sauvignon issus des dates de récolte D1, D2, D3 et D4. Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$).	248
Figure 78 : Intensités moyennes des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts (A) et des vins (B) de Merlot issus des dates de récolte D1, D2, D3 et D4. Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$).....	249
Figure 79 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en γ -nonalactone dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4	251
Figure 80 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en massoia lactone dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4	252
Figure 81 : Incidence de la date de récolte sur le rapport de l'aire du composé C-ZO19 sur l'étalon interne dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4	253
Figure 82 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en furanéol dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4.....	254
Figure 83 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en homofuranéol dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4	255
Figure 84 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en MND dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et	

de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4.....	256
Figure 85 : Intensités moyennes des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des vins après 7 mois (A), 22 mois (B) et 30 mois (C) de vieillissement en bouteille. Les lettres « a » et « b » représentent les résultats de l'ANOVA ($\alpha=0,05$).	266
Figure 86 : Effet de la présence de baies flétries sur l'évolution des teneurs en 3-méthyl-2,4-nonanedione dans les moûts et les vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2.....	268
Figure 87 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur les teneurs en γ -nonalactone des moûts et des vins en fin de FA et après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2.....	269
Figure 88 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies sur-muries sur les teneurs en massoia lactone dans les moûts et les vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2	270
Figure 89 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur les teneurs en furanéol dans les moûts et les vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2	271
Figure 90 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur les teneurs en homofuranéol des moûts et des vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2.....	271
Figure 91 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur le rapport de l'aire du composé C-ZO19 sur l'étalon interne dans les moûts et les vins en fin de FA et après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2	272
Figure 92 : Représentation en ACP des résultats des analyses sensorielles (en rouge, variables) et des analyses quantitatives (en bleu, variables supplémentaires) des vins après 7 mois (A), 22 mois (B) et 30 mois (C) de vieillissement en bouteille	274

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Structures chimiques des aldéhydes et alcools en C6.....	31
Tableau 2 : Puretés des composés et solvants utilisés pour cette étude	50
Tableau 3 : Ions utilisés pour la détection et la quantification des furanone, de la massoia lactone, de l'abhexone et des cétones de Strecker	54
Tableau 4 : Ions utilisés pour la détection et la quantification des lactones et de la 3-méthyl-2,4-nonanedione	55
Tableau 5 : Composition du milieu modèle (Marullo <i>et al.</i> , 2005).....	59
Tableau 6 : Tableau récapitulatif des données des modalités selon les cépages Merlot (M) et Cabernet-Sauvignon (CS) : témoin (Tem), sur-muris à la lumière (L+) ou à l'abri de la lumière (L-)	61
Tableau 7 : Dates de récolte des raisins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012	64
Tableau 8 : Dates de récolte des raisins de Merlot et Cabernet-Sauvignon du millésime 2014.....	65
Tableau 9 : Composition des échantillons présentés pour la détermination des seuils de perception...	67
Tableau 10 : Code vin, origine, cépage et millésime des 30 vins présentés au jury.....	83
Tableau 11 : Prix de vente HT ^(a) (euros) des vins hors appellation (HA) et de l'appellation (A)	84
Tableau 12 : Caractéristiques des moûts évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O.....	101
Tableau 13 : Caractéristiques des vins évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O.....	101
Tableau 14 : Comparaison des aromagrammes obtenus à partir d'extraits organiques de moûts de Merlot marqués ou non par les nuances de fruits cuits (colonne apolaire)	104
Tableau 15 : Comparaison des aromagrammes obtenus à partir d'extraits organiques de vins de Merlot marqués ou non par les nuances de fruits cuits (colonne apolaire)	106
Tableau 16 : Distribution des vingt zones odorantes d'intérêt détectées par CPG-O dans les moûts et les vins marqués ou non par des nuances « fruits cuits » sur colonne polaire ^a et apolaire ^b	108
Tableau 17 : Caractéristiques des moûts issus de raisins passerillés ou non et évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O.....	110
Tableau 18 : Caractéristiques des vins issus de raisins passerillés ou non et évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O.....	111
Tableau 19 : Comparaison de la distribution des vingt zones odorantes d'intérêt détectées par CPG-O dans les moûts et les vins issus de raisins marqués par des nuances fruits cuits et ceux issus de raisins passerillés au laboratoire et passerillés sur souche sur colonne polaire ^a et apolaire ^b	112
Tableau 20 : Identification des zones odorantes (ZO) détectées par CPG-O dans les extraits de moûts et de vins marqués par des nuances de fruits cuits	117
Tableau 21 : Caractéristiques de la δ -décalactone (M = 170 g/mol).....	125
Tableau 22 : Caractéristiques de la whisky lactone ou 3-méthyl-4-octanolide.....	125
Tableau 23 : Lactones décrites dans la nature ayant la même masse moléculaire et spectre de fragmentation proche du composé C-ZO19	125
Tableau 24 : Exemples de γ et δ -lactones synthétisées au sein de l'ISM (Bordeaux) de masse moléculaire : 170 g/mol.....	128
Tableau 25 : Teneurs en furanéol dans les vins retrouvées dans la littérature	133
Tableau 26 : Seuils de perception du furanéol en solution hydro alcoolique retrouvés dans la littérature	134
Tableau 27 : Teneurs en homofuranéol dans les vins retrouvées dans la littérature	135

Tableau 28 : Seuils de perception de l'homofuranéol en solution hydro alcoolique retrouvés dans la littérature	135
Tableau 29 : Paramètres analytiques de la quantification du furanéol et de l'homofuranéol dans les moûts et les vins rouges.....	139
Tableau 30 : Seuils de perception du furanéol et de l'homofuranéol dans un milieu synthétique de moût (MS) à pH 3,5, dans un milieu modèle vin (VS) à pH 3,5 et à pH 4	140
Tableau 31 : Seuils de perception du furanéol dans un milieu modèle vin (VS) à pH 3,5 supplémenté ou non avec 10 µg/L d'homofuranéol	141
Tableau 32 : Echantillonnage des moûts et des vins pour les analyses quantitatives.....	142
Tableau 33 : Exemples de distribution des énantiomères (R/S) des γ-lactones dans les fruits.....	157
Tableau 34 : Seuils de perception olfactive des énantiomères des lactones déterminés dans un vin rouge (Cooke <i>et al.</i> , 2009).....	157
Tableau 35 : Descripteurs de différentes formes énantiomères de γ-lactones (Mosandl et Gunther, 1989).....	158
Tableau 36 : Comparaison des courbes de calibration de la massoia lactone dans les vins rouges à partir d'une extraction par SPME et d'une extraction liquide-liquide	165
Tableau 37 : Paramètres des courbes de calibration de la massoia lactone dans les moûts et les vins	166
Tableau 38 : Seuils de perception de la (Z)-1,5-octadien-3-one retrouvés dans la littérature	175
Tableau 39 : Paramètres d'extraction testés en SPME pour l'optimisation de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one.....	180
Tableau 40 : Plan factoriel 2 ⁴	180
Tableau 41 : Paramètres d'extraction optimisés sur moût (SPME) pour la quantification de la (Z)-1,5-octadien-3-one en CPG-SM-CI.....	181
Tableau 42 : Paramètres d'extraction du vin (SPME) pour la quantification de la (Z)-1,5-octadien-3-one en CPG-SM-CI	182
Tableau 43 : Paramètres de la courbe de calibration de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts	183
Tableau 44 : Seuils de perception olfactive de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans un milieu synthétique de composition proche du moût (MS) et du vin (VS) et dans un moût naturel de Merlot.....	184
Tableau 45 : Codes, provenance, composition de l'assemblage et millésimes des vins sélectionnés.	197
Tableau 46 : Teneurs en composés volatils des vins témoins (V-T) et des vins marqués par les nuances de fruits cuits (V-C).....	202
Tableau 47 : Teneurs en composés volatils retrouvées dans le vin témoin V-T2 et le vin fruits cuits V-C9	205
Tableau 48 : Dénomination des échantillons.....	213
Tableau 49 : Incidence du passerillage sur la composition des moûts de Merlot et Cabernet-Sauvignon	214
Tableau 50 : Teneurs en MND dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA (α=0,05). n=4	219
Tableau 51 : Teneurs en furanéol et homofuranéol dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA (α=0,05). nd : non détecté. n=4	220
Tableau 52 : Teneurs en γ-nonolactone et δ-décalactone dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA (α=0,05). nd : non détecté. n=4	221

Tableau 53 : Teneurs en massoia lactone dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). nd : non détecté. n=4	222
Tableau 54 : Teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4.....	223
Tableau 55 : Rapport de l'aire du composé C-ZO19 (A_{ci}) sur l'aire de l'étalon interne (A_{ei}) dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4	223
Tableau 56 : Seuils de perception olfactive de la γ -nonalactone en solution hydroalcoolique (SH^2) .	232
Tableau 57 : Températures et précipitations mensuelles de l'année 2012 au Château Latour, comparées aux moyennes des températures des 16 dernières années et aux moyennes des précipitations des 36 dernières années du château (données Château Latour).....	238
Tableau 58 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des moûts de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012	239
Tableau 59 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des vins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012 (après fermentation alcoolique)	240
Tableau 60 : Températures et précipitations mensuelles de l'année 2014 au château Latour, comparés aux moyennes des températures des 16 dernières années et aux moyennes des précipitations des 36 dernières années du château (données Château Latour).....	245
Tableau 61 : Incidence de la date de récolte sur la composition des moûts de Merlot du millésime 2014	245
Tableau 62 : Incidence de la date de récolte des raisins sur les paramètres œnologiques courant des moûts de Cabernet-Sauvignon du millésime 2014.....	246
Tableau 63 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des vins de Merlot du millésime 2014	246
Tableau 64 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des vins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2014	247
Tableau 65 : Incidence de la présence de baies flétries sur la composition des moûts	263
Tableau 66 : Incidence de la présence de baies flétries sur la composition des vins	264
Tableau 67 : Résultats des tests triangulaires réalisés sur les vins après 22 mois et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=20.....	264

INTRODUCTION GENERALE

Les vins de Bordeaux, issus de l'assemblage de deux principaux cépages qui sont le Merlot et le Cabernet-Sauvignon, ont construit leur réputation sur une complexité, une finesse de leurs arômes mais surtout sur leur aptitude au vieillissement. En effet, ces vins peuvent conserver pendant plusieurs années l'arôme fruité de leur jeunesse tout en développant des arômes spécifiques d'un cépage, d'un terroir, donnant naissance à ce que nous appelons le bouquet de réduction. Bien sûr ces vins, qui dès leur prime jeunesse sont capables de se bonifier au fil du temps, résultent de l'expression de facteurs physiologiques et œnologiques liés à la qualité de la composition du fruit et du vin (facteurs intrinsèque) et de facteurs environnementaux singuliers. Au final, rares sont les vins évoluant de la sorte.

Si le pré-requis à l'élaboration d'un grand vin de garde demeure la maîtrise des fermentations et de l'élevage, c'est avant tout à la vigne et dans le raisin qu'il prend forme. La maîtrise de la qualité du raisin nécessite, bien entendu au-delà des aspects sanitaires, de récolter un fruit mûr dont la définition correspond à un « fruit qui a atteint son plein développement » (Nouveau Petit Robert, 2008). Cette notion de maturité est associée, d'un point de vue technologique, à la composition particulière du raisin en sucres, en acides, en composés volatils odorants, en composés phénoliques ou autres précurseurs d'arômes produits durant le développement de la baie et accumulés au cours de la maturation, voire lors de la phase de sur-maturation.

Le vinificateur précautionneux, sur la base de cette composition particulière du raisin, peut élaborer un vin ayant une identité propre en adéquation avec son projet esthétique. Au final, comme l'écrivait Peynaud (2006), le plus souvent « *le vin ressemble à ceux qui le produisent, avec leur habileté, leurs maladresses, ... l'insatiable à produire, l' impatient à vendanger, comme l'ignorant à vinifier, n'ont au bout du compte que le vin qu'ils savent faire* ».

Pour l'amateur, les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon présentent une vaste palette aromatique qui puise son origine dans la diversité des conditions de maturation des raisins de la région Bordelaise. Ainsi, cueillis trop tôt, les raisins et les vins issus de leur vinification sont systématiquement marqués par des nuances végétales. Lorsque les raisins atteignent leur pleine maturité, ce caractère disparaît. A ce stade, bien que l'odeur du raisin soit discrète, c'est sa vinification qui va révéler les nuances de fruits frais telles que la cerise et la mûre pour le Merlot, les vins de Cabernet-Sauvignon exprimant plutôt des nuances subtiles et complexes de cassis

et de fraise. Récoltés tardivement, en conditions de sur-maturation, les raisins et les vins, qu'ils soient de Merlot ou de Cabernet-Sauvignon développent tous deux, indissociablement, des odeurs de fruits cuits évoquant le pruneau et la figue. Au final, il est plus difficile pour le dégustateur de distinguer l'identité d'un vin de Merlot de celui d'un vin de Cabernet-Sauvignon.

Très rarement rencontrées dans les vins de Bordeaux jusqu'au début des années 2000, les nuances de fruits cuits sont de plus en plus fréquemment retrouvées dans les vins jeunes et témoignent ainsi d'une profonde modification de l'état de maturité des raisins de la région bordelaise. Bien entendu, ces nuances peuvent être retrouvées fortuitement ou à dessein selon le projet esthétique du vinificateur. Celles-ci résultent le plus souvent de l'action conjointe de pratiques culturelles favorisant la maturation du raisin, comme par exemple l'application répétée d'effeuillages sévères, et de choix de dates de récolte tardives. Toutefois, peu de vinificateurs cherchent systématiquement à récolter des raisins en sur-maturité à l'origine de vins aux nuances fruits cuits. En effet, celles-ci ne sont pas caractéristiques de la « typicité » des vins de Bordeaux ; autrement dit ces odeurs ne font pas partie des attributs olfactifs traditionnels des vins de ces appellations. Par conséquent, leur présence est associée, par certains dégustateurs, à un défaut dit « de type ».

Aussi, ces nuances sont considérées comme « typiques » de l'arôme des vins élaborés sous des latitudes plus méridionales et sous des climats plus chauds et plus secs. On les retrouve, dès leur prime jeunesse, dans le Merlot cultivé en Sicile ou encore dans l'arôme des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon, issus de raisins cultivés dans d'autres régions telles que la Central Valley (Californie) et dans une moindre mesure dans la Nappa Valley. Les vins élaborés traditionnellement à partir de raisins passerillés comme l'Amarone en Italie (issus de trois cépages : le Corvina Veronese, le Rondinella et le Molinara) présentent également ces nuances très précocement. Elles sont associées à des modes de production traditionnels favorisant les phénomènes oxydatifs au cours de l'élevage. Par exemple, dans les vins doux naturels (VDN) ou les vins de Porto (élaborés à partir de raisins de Touriga ou de Tinta), elles contribuent à leur complexité aromatique.

Enfin, ces nuances sont également caractéristiques de l'arôme des vins rouges prématurément vieillis. Absentes dans le vin jeune, elles sont retrouvées dans les vins conservés en bouteilles

ou plus occasionnellement au cours de l'élevage en fût de chêne ; elles témoignent ainsi d'une évolution oxydative de l'arôme et par conséquent sont assimilées à un défaut.

Ces dernières années, de nombreux travaux de recherche visant à expliquer, par l'analyse chimique l'arôme des vins rouges, ont été menés. Aujourd'hui, il est acquis que la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP) est responsable de l'odeur de poivron vert des raisins et des vins de Cabernet-Sauvignon. Ce composé, présent à forte concentration dans le raisin vert, s'atténue au cours de la maturation. D'ailleurs, il figure parmi les critères olfactifs et analytiques déterminant la qualité du raisin à maturité. L'arôme fruité des vins rouges a suscité également beaucoup d'intérêt. Le rôle de certains esters tels que l'hexanoate d'éthyle ou encore l'octanoate d'éthyle (Bertrand, 1983 ; Etiévant, 1991) est bien décrit dans la littérature pour participer à l'arôme fruité des vins rouges. Plus récemment, le leucate d'éthyle, a été identifié comme un contributeur majeur à l'arôme de mûre des vins (Falcao *et al.*, 2012). Concernant l'arôme de fruits cuits relatif aux vins rouges élaborés traditionnellement en conditions oxydatives (Cutzach *et al.*, 1998) ou non (Pons *et al.*, 2008a), deux composés très odorants ont été identifiés respectivement la 3-hydroxy-4,5-diméthyl-furan-2-one (sotolon) et la 3-méthyl-2,4-nonanedione (MND).

Ainsi, la similitude des descripteurs « fruits cuits » des vins jeunes issus de la vinification de raisins récoltés tardivement et reflétant un état physiologique singulier de la baie et ceux utilisés pour décrire l'arôme particulier de l'évolution oxydative des vins rouges a suscité notre intérêt.

Toutefois, en dépit de l'importance sensorielle, les déterminants moléculaires des nuances fruits cuits, retrouvées à la fois dans les raisins et les vins rouges de Merlot et de Cabernet-Sauvignon, restent inconnus à ce jour. Sur la base d'une approche croisée entre analyse sensorielle, analyse chimique fine et agronomie, nos recherches s'articulent en trois parties.

Dans un premier temps, nous discuterons de la présence de ces nuances dans les vins de Bordeaux en lien avec la notion de typicité propre à une appellation. La seconde partie de ce mémoire rapporte l'identification et le dosage de marqueurs moléculaires spécifiques des nuances de fruits cuits des raisins et des vins rouges de Merlot et de Cabernet-Sauvignon. Enfin,

nous nous intéresserons, dans la troisième partie, aux facteurs agronomiques influençant leur concentration dans les raisins et les vins.

PARTIE 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Merlot et Cabernet-Sauvignon de la région bordelaise

1. Historique, répartition, état des lieux des deux cépages

Le Cabernet-Sauvignon et le Merlot sont les deux grands cépages rouges de *Vitis vinifera* retrouvés dans le vignoble bordelais. Aujourd'hui, le Merlot représente près de 50% de l'encépagement du vignoble rouge de Bordeaux (Source : Chambre d'Agriculture d'Aquitaine 2011), le Cabernet-Sauvignon 30%, le Cabernet franc 15% et enfin, 5% sont représentés par le Carménère, le Petit Verdot et le Malbec. C'est un cépage précoce ; il est de deuxième époque de maturité (époque de maturité : 2,5 semaines après le Chasselas) et le débourrement se produit deux jours après celui du Chasselas (Galet, 1993).

Le Merlot se retrouve dans toutes les appellations, du Médoc à Saint-Emilion en passant par les Graves. C'est dans le libournais (Saint-Emilion et Pomerol) qu'il est majoritaire, avec plus de 70% du vignoble. D'ailleurs, certaines cuvées sont élaborées uniquement avec ce cépage. Toutefois, c'est son assemblage avec les vins de Cabernet-Sauvignon voire de Cabernet franc qui donne naissance aux plus grands crus. Ainsi, d'autres régions du monde ont adopté ces cépages qui sont devenus aujourd'hui des standards ampélographiques internationaux. L'autre cépage majoritaire, retrouvé plus particulièrement dans le Médoc et les Graves est le Cabernet-Sauvignon. C'est un cépage précoce ; il est de deuxième époque de maturité (époque de maturité : 3 à 3,5 semaines après le Chasselas) et le débourrement se produit 13 jours après celui du Chasselas (Galet, 1993).

2. Notion de maturation et sur-maturation des raisins

La phase de maturation débute à la véraison. Pendant cette période, les concentrations en solutés, notamment les acides maliques et tartriques, sont maximales et l'accumulation des sucres et des anthocyanes débute (Boss *et al.*, 1996). Durant la maturation, le poids, le volume et le diamètre de la baie vont fortement augmenter. Peu à peu, le métabolisme de la baie se modifie et permet l'accumulation des sucres (corrélée avec la diminution des acides tout au long de la maturation), des composés volatils odorants et des composés phénoliques.

L'état de maturité des raisins est un élément indissociable de la qualité du vin. Concernant la définition de la maturité, il est très difficile d'adopter une définition rigoureuse cet état. Comme

le soulignait très justement Ribéreau-Gayon (1964), « tout le monde a la notion du raisin mûr, mais la maturité n'est pas un caractère absolu ... il n'y a pas un état physiologique limite, définitif, facile à définir, mais il y a des degrés dans la maturité ». Le raisin est un fruit non climactérique. Aussi, le jour de sa cueillette, il doit avoir atteint une maturité « optimale » en adéquation avec le projet esthétique du vinificateur. Pour l'aider dans sa prise de décision, la recherche en œnologie s'est attachée à définir l'état de maturité du raisin par des grandeurs analytiques simples. Trois grands types de maturités peuvent être distingués selon la nature des constituants du raisin pris en considération :

- La maturité technologique correspond à la richesse maximale en sucres dans les baies tout en gardant une acidité acceptable pour le vinificateur ; au cours de la maturation, les teneurs en sucres réducteurs augmentent alors que celles de l'acide malique diminuent.
- La maturité phénolique correspond à l'accumulation maximale en tanins condensés et anthocyanes. Les tanins condensés ou proanthocyanidines sont présents dans la pellicule et la pulpe ((+)-catéchine, (-)-épicatéchine, (-)-épicatéchine-3-O-gallate) ou seulement dans la pellicule ((-)-épigallocatechine, (+)-gallocatéchine). Les anthocyanes, essentiellement présentes dans les vacuoles des pellicules (à l'exception des cépages teinturiers) sont la malvidine, la cyanidine, la delphinidine, la pélagonidine, la péonidine et la pétudinine ; elles sont responsables de la pigmentation des baies (Ribéreau-Gayon *et al*, 2004).
- Enfin, la maturité aromatique correspond à la concentration maximale en arômes variétaux et précurseurs d'arômes. Par exemple, au cours de la phase de maturation, les arômes végétaux disparaissent au profit de nuances fruitées.

Au final, le vinificateur jugera, après la dégustation des baies et sur la base du bilan analytique de ses raisins, de la meilleure adéquation entre la date de récolte et le profil aromatique et gustatif recherché.

Pour le vinificateur, compte tenu des différentes façons d'appréhender la notion de maturité, la récolte des raisins à maturité « idéale » peut s'avérer délicate. D'autre part, les modifications climatiques au cours de cette dernière décennie pourraient être un facteur du changement des

conditions de maturation des raisins. Ces changements associés au réchauffement climatique, engendrant des étés chauds et secs, peuvent entraîner le phénomène de sur-maturation des baies. De récents travaux ont montré que les effets de la sur-maturation des baies sont corrélés avec leur déshydratation, dont la finalité est le flétrissement du fruit (Moreno *et al.*, 2008). Pendant cette période, on admet que les phénomènes de migration entre la plante et le fruit sont considérablement réduits. Il se produit ainsi une concentration par évaporation de l'eau tandis que se poursuivent les combustions respiratoires. C'est à ce stade que le raisin, qui était quasiment inodore, acquiert une odeur caractéristique rappelant le pruneau et la figue.

Ces résultats et observations corroborent ceux provenant d'études plus récentes concernant l'impact du réchauffement climatique sur la qualité du raisin et du vin. Elles montrent que le changement climatique entraîne une augmentation de la concentration en sucres réducteurs des raisins, corrélée avec une augmentation du degré d'alcool (allant jusqu'à 14%vol. voir 15%vol.), une diminution de l'acidité et par conséquent, une modification des arômes variétaux affectant la composition aromatique du vin (Mira de Orduña, 2010).

II. Composition de la fraction volatile odorante des raisins et des vins rouges

1. Composante aromatique du raisin

Parmi les caractéristiques chimiques et biochimiques à l'origine de la production de raisins de qualité, les molécules volatiles odorantes tiennent un rôle de premier ordre. Le développement de la baie de raisin, de la véraison jusqu'à la maturation, est caractérisé par une profonde modification à la fois qualitative et quantitative des différentes familles chimiques de composés volatils. La singularité de distribution des nombreux composés volatils odorants présents dans le raisin constitue une des facettes de l'expression d'un cépage, d'un terroir. Les principaux composés d'impacts, c'est-à-dire ceux dont les concentrations sont supérieures à leur seuil de perception, qui par leur présence vont modifier l'arôme du raisin, sont reportés ci-après.

a) Composés terpéniques

Les terpènes sont responsables de l'arôme caractéristique des raisins des cépages muscatés mais ils existent aussi, à faibles concentrations, dans des variétés à saveur simple. Ils sont retrouvés dans les raisins à la fois sous forme libre et sous forme de précurseurs inodores, principalement glycosylés. De nombreux travaux de recherche menés depuis la fin des années soixante-dix ont pu à ce jour, grâce au développement de méthodes analytiques telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, aboutir à l'identification dans le raisin d'une quarantaine de composés terpéniques (Schreier *et al.*, 1976 ; Etiévant et Bayonove, 1983 ; Bayonove *et al.*, 1984 ; Rapp, 1998). Parmi eux, les alcools monoterpéniques à 10 atomes de carbone contribuent significativement à l'arôme des raisins et vins issus de cépages muscatés ; leurs concentrations (jusqu'à 6mg/L) peuvent être très supérieures à leur seuil de détection olfactif (Strauss *et al.*, 1986). On peut citer par exemple le linalol, le nérol et le géraniol évoquant la rose, l' α -terpinéol aux odeurs de muguet et le citronellol dégageant une odeur de citronnelle (Figure 1). Leurs seuils de perception dans le vin sont assez bas ; ils sont respectivement de 50, 400, 130, 400 et 18 μ g/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004). Les travaux de Ribéreau-Gayon *et al.* (1975) avaient permis de mettre en évidence une action de synergie entre ces composés, abaissant ainsi leurs seuils de perception. Plus récemment, Darriet *et al.* (2009) ont montré que les seuils de détection du linalol et du géraniol étaient diminués par la présence de la β -damascénone. Le linalol et le citronellol jouent tous deux un rôle majeur dans l'arôme des raisins de la famille des muscats (Etiévant et Bayonove, 1983) et des vins issus de leurs vinifications. Selon Schreier *et al.*, (1976) et Günata *et al.*, (1985), leur impact organoleptique demeure moindre dans l'arôme des raisins issus de cépages alsaciens et allemands tels que le Pinot gris, le Riesling ou encore le Gewürztraminer. En revanche, les teneurs retrouvées dans les cépages à saveur simple, tels que le Merlot et le Cabernet-Sauvignon, sont généralement inférieures aux seuils de perception.

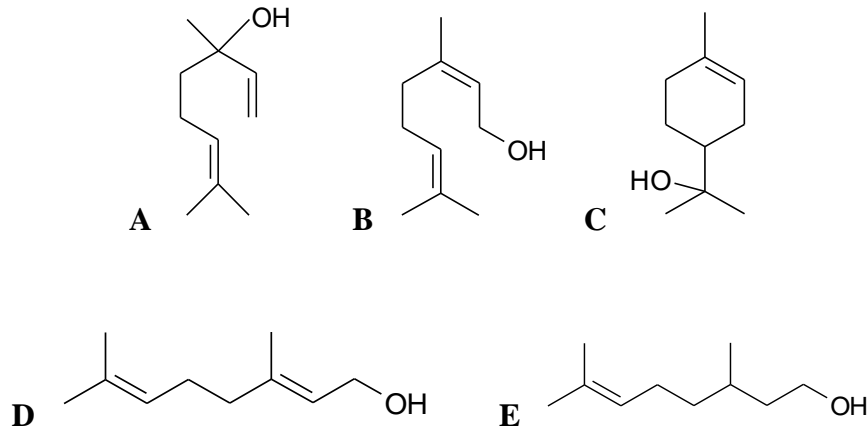


Figure 1 : Structures chimiques des monoterpénols: linalol (A), nérol (B), α-terpinéol (C), géraniol (D), citronellol (E)

Des études (Schreier *et al.*, 1976 ; Coelho *et al.*, 2006 ; Parker *et al.*, 2007) montrent que certains sesquiterpènes (15 atomes de carbones) ont une forte contribution à l'arôme du vin comme, par exemple, la rotundone (Figure 2). C'est une molécule responsable du caractère poivré des vins de Syrah (Wood *et al.*, 2008) ; son seuil de perception est de 8ng/L dans l'eau et de 16ng/L dans le vin rouge.

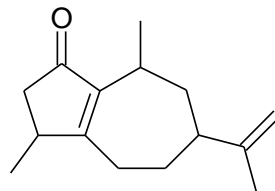


Figure 2 : Structure chimique de la rotundone

Les formes précurseurs des alcools terpéniques sont glycosylées. Elles peuvent être révélées par voie chimique ou enzymatique par l'intervention des β-glycosidases du raisin (Cordonnier et Bayonone, 1974). Cependant, le faible pH du moût, l'absence de spécificité de ces enzymes ainsi que les opérations de clarification des moûts limitent leur incidence sur le développement de l'arôme. De plus, la fermentation alcoolique affecte peu le potentiel glycosylé des raisins (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).

Une récente étude de Kalua et Boss (2009) a mis en évidence que les terpènes se développent précocement dans les baies à la pré-véraison, arrivent aux concentrations maximales à véraison

et enfin, diminuent pendant la maturation. On peut supposer qu'une maturation prolongée peut entraîner la perte des terpènes et donc des arômes correspondants.

b) Caroténoïdes et C-13 norisoprénoïdes

Les caroténoïdes appartiennent à la famille des terpènes à 40 atomes de carbone. Parmi ces composés retrouvés dans la baie de raisin, on retrouve par exemple la lutéine, le β -carotène, ou encore la néoxanthine. A véraison, leurs teneurs sont variables, comprises entre 15 à 2500 μ g/kg de poids frais. Pendant la maturation des baies, la teneur en caroténoïdes diminue par dégradation oxydative au profit de composés à 9, 10, 11 atomes de carbones (Enzel, 1985 ; Fariña *et al.*, 2010) et également de composés norisoprénoïdes à 13 atomes de carbone, appelés C13-norisoprénoïdes (Schreier *et al.*, 1976 ; Mendes-Pinto, 2009). Ces composés ont été identifiés dans la baie de raisin principalement sous forme glycosylée (Roubelakis-Angelakis, 2009) et dans une moindre mesure sous forme libre. Des réactions de type clivage enzymatique ou hydrolyse acide permettent de libérer les composés odorants de leurs formes liées.

Parmi les C13-norisoprénoïdes les plus importants, on retrouve la β -damascénone (Figure 3), à l'odeur de compote de pomme. Ce composé volatil a tout d'abord été identifié dans la baie de raisin. Selon Fang et Qian (2006), sa concentration dans les vins issus de raisins de Pinot noir récoltés à différents stades de maturité augmente avec la maturation (concentrations de β -damascénone et β -ionone variant de 6,5 μ g/L à 10 μ g/L). Il est également retrouvé sous forme libre dans les vins rouges tels que ceux élaborés à partir de raisins de Cabernet-Sauvignon et de Merlot (Pineau *et al.*, 2007 ; Canuti *et al.*, 2009). Les seuils de perception sont très variables, dus à un effet matrice très important : il est extrêmement bas dans l'eau (2ng/L), il oscille entre 40 à 60ng/L en solution hydroalcoolique (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004) et atteint les 7000ng/L dans le vin rouge (Pineau *et al.*, 2007). La β -ionone, composé à l'odeur caractéristique de violette, possède comme la β -damascénone, des seuils de perception extrêmement variables selon la matrice considérée. Ce composé ne contribue pas à l'arôme des vins blancs mais peut intervenir significativement dans l'arôme des vins rouges avec des teneurs allant jusqu'à 257ng/L (seuil de perception solution modèle de vin : 90ng/L) (Kotseridis, 1999).

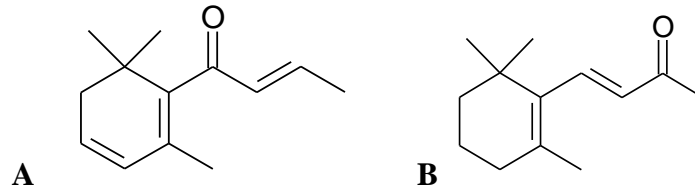


Figure 3 : Structures chimiques de la β -damascénone (A) et de la β -ionone (B)

Tout comme les composés terpéniques, la révélation des précurseurs glycosylés des dérivés norisoprénoïdes peut se faire par voie chimique ou enzymatique bien que, selon les travaux de Winterhalter et Schreier (1994), cette dernière soit très limitée.

c) Méthoxy-pyrazines

Les méthoxy-pyrazines, hétérocycles azotés issus du métabolisme des acides aminés sont très odorantes ; elles sont détectées dans l'eau à des concentrations extrêmement faibles de l'ordre du nanogramme par litre (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004). Certains vins rouges de Bordeaux peuvent être marqués par la présence d'une méthoxy-pyrazine, la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (Figure 4) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004), responsable des notes de poivron vert. Elle est surtout liée à l'arôme typique de Cabernet-Sauvignon dans lequel elle a été identifiée en 1975 par Bayonove *et al.* (1975). Elle est retrouvée dans une moindre mesure dans les vins de Merlot (Roujou de Boubée *et al.*, 2000). A véraison, la concentration maximale en IBMP est atteinte et sa concentration tend à diminuer au cours du développement de la baie notamment par un phénomène de dilution dû à l'augmentation du volume de la baie (Roujou de Boubée, 2000). Les teneurs en IBMP sont fortement influencées par les conditions environnementales et culturales (Roujou de Boubée *et al.*, 2000). Dès lors, une teneur importante dans le raisin à la récolte est associée à un manque de maturité et constitue un élément dépréciateur de la qualité aromatique d'un vin.

Localisée principalement dans la pellicule (Roujou de Boubée *et al.* 2000), sa biosynthèse n'a pas encore été totalement élucidée ; il paraît cependant très vraisemblable que l'étape de méthylation de l'IBHP (2-hydroxy-3-isobutyl-pyrazine), réalisée par des ortho-méthyltransférases dont les gènes viennent récemment d'être identifiés, conditionne sa formation (Vallarino *et al.*, 2014).

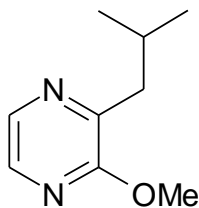


Figure 4 : Structure chimique de la 2-methoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP)

d) Aldéhydes, alcools (C6)

Le début du développement de la baie est aussi marqué par la présence d'aldéhydes odorants; ensuite les alcools et les aldéhydes augmentent jusqu'à la fin de la véraison ; enfin, au cours de la maturation, les teneurs tendent à diminuer (Kalua et Boss, 2009). La présence de ces composés volatils est donc intimement liée à l'état de maturité des baies. D'autre part, lors de l'écrasement des raisins à l'air, il se forme très rapidement des quantités importantes d'aldéhydes à six atomes de carbone initiées par l'oxydation des acides gras insaturés du moût tels que l'acide linoléique et l'acide linoléique (composés en C18). Ces aldéhydes odorants pourront ensuite être réduits en alcools beaucoup moins odorants, au cours de la fermentation alcoolique (Ferreira *et al.*, 1995). Parmi les aldéhydes, on retrouve l'hexanal, le trans-2-hexéanal ou encore le cis-3-hexéanal conduisant respectivement à la formation de l'hexanol, du trans-2-hexénol et du cis-3-hexénol (Tableau 1) pendant la fermentation alcoolique (Schreier, 1979). Les seuils de perception des aldéhydes dans l'eau sont de 4,5µg/L, 17µg/L et 0,03µg/L respectivement et de 2500µg/L, 200µg/L et 400µg/L pour les alcools respectivement (Guth, 1997 ; Gemmert, 2003). Les aldéhydes ont de faibles seuils de perception (Bayonove *et al.*, 1998) et présentent des odeurs herbacées telles que la verdure ou les feuilles froissées. Même lorsque les teneurs sont faibles, ils peuvent conférer aux moûts et dans une moindre mesure aux vins, une odeur herbacée très caractéristique (Ferreira *et al.*, 1995 ; Culleré *et al.*, 2007).

Tableau 1 : Structures chimiques des aldéhydes et alcools en C6

Aldéhydes	Structure	Alcools	Structure
Hexanal		Hexanol	
Trans-2-hexéanal		Trans-2-hexénol	
Cis-3-hexéanal		Cis-3-hexénol	

2. Composante aromatique du vin rouge

L'arôme du vin résulte de la contribution directe ou indirecte de composés volatils formés au cours de nombreuses étapes faisant appel à des mécanismes à la fois biochimiques et chimiques. Selon Lopez *et al.* (1999) les différences aromatiques entre les vins mono-cépage de Merlot, Cabernet-Sauvignon et Grenache sont plutôt quantitatives que qualitatives. Aussi, la connaissance précise des variations de concentrations des composés volatils ainsi que la détermination de leurs seuils de perception sont indispensables. La science œnologique s'est attachée depuis de nombreuses années à organiser ces composantes d'arôme en différentes classes.

a) Arôme variétal

L'arôme variétal des vins ou arôme primaire est l'ensemble des composés aromatiques provenant du raisin. Il joue un rôle déterminant dans la qualité et la typicité des vins (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004). Cet arôme est intimement lié au terroir, dont la notion conjugue plusieurs facteurs que sont la géologie, le climat, le matériel végétal mais aussi l'humain, chacun d'entre eux se déclinant à différentes échelles. Ceci renvoie à la définition adoptée en 2010 par l'OIV selon laquelle : « le terroir vitivinicole est un concept qui se réfère à un espace sur lequel se développe un savoir collectif, des interactions entre un milieu physique et biologique identifiable et les pratiques vitivinicoles appliquées, qui confèrent des caractéristiques distinctives aux produits originaires de cet espace ».

Parmi les composés responsables de l'arôme primaire, on retrouve alors, comme dans le raisin, des alcools terpéniques tels que le linalol, le nérol ou le géraniol évoquant des odeurs florales telles que la rose, les alcools et cétones en C6 aux odeurs herbacées, les C-13 norisoprénoïdes ou encore les méthoxypyrazines comme mentionnés précédemment.

b) Arôme fermentaire

L'arôme fermentaire correspond aux composés volatils issus du métabolisme secondaire levurien et bactérien. Constitué le plus souvent de composés volatils peu odorants mais présents à de très fortes teneurs, il participe à la « toile de fond » aromatique de chaque vin. Au cours du

processus de vinification, l'action de ces microorganismes va modifier successivement la nature et la quantité des composés volatils natifs du raisin. Il apparaît alors une complexité aromatique et analytique propre à chaque vin.

i. Alcools supérieurs

Les micro-organismes produisent des alcools supérieurs, possédant plus de deux atomes de carbone. Cette famille est majoritairement composée de 2 et 3-méthylbutanol, propanol, 2-méthylpropanol, butanol, pentanol et 2-phényléthanol. Le plus odorant et le plus agréable est le 2-phényléthanol (Figure 5) à l'odeur de rose. Son seuil de perception en solution modèle de vin est de 14mg/L (Ferreira *et al.*, 2000). Les teneurs en alcools supérieurs des vins varient entre 150 et 550mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004). Parfois, elles peuvent atteindre jusqu'à 1g/L et sont à l'origine de défauts aromatiques car, à l'exception du 2-phényléthanol, ces composés évoquent plutôt l'odeur de vernis à ongles ou d'huile de fusel (Etiévant, 1991 ; Dubois, 1994).

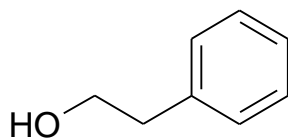


Figure 5 : Structure chimique du 2-phényléthanol

La formation des alcools supérieurs est liée au métabolisme des acides aminés et leur production est fortement liée aux facteurs qui favorisent la croissance des levures comme par exemple un pH élevé et une température de fermentation élevée (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).

ii. Esters

Les esters découlent de la réaction d'une fonction alcool sur une fonction acide, avec l'élimination d'une molécule d'eau. Les nombreux alcools et acides présents dans le vin mènent à un grand nombre d'esters possibles. Toutefois, l'abondance de l'éthanol et la réactivité des

alcools primaires favorisent la présence d'esters éthyliques qui, pour des raisons de cinétique, sont plus abondants. Les processus fermentaires entraînent des estérifications de nature enzymatique. Grâce aux activités estérases, le métabolisme levurien forme différents esters et leur cinétique de formation suit celle de la fermentation alcoolique (Taillandier et Bonnet, 2005). Quelques dizaines de mg/L d'esters sont produits au cours de la fermentation alcoolique. Ces composés évoquent pour la plupart des arômes agréables, contribuant aux nuances fruitées des vins jeunes (Ribéreau-Gayon, 1978 ; Bertrand, 1983 ; Etiévant, 1991), à l'exception de l'acétate d'éthyle, avec un seuil de perception de 7,5mg/L (Guth, 1997) et dont l'odeur évoque le vernis ou le solvant (concentrations parfois supérieures à 160mg/L), caractéristique des vins acescents (Bertrand, 1983). Les esters majoritaires sont les esters éthyliques d'acides gras à courte chaîne (C2 à C10). L'hexanoate d'éthyle (C₆C₂), l'octanoate d'éthyle (C₈C₂) et le décanoate d'éthyle (C₁₀C₂) (Figure 6) ont un rôle important pour l'arôme fruité des vins jeunes ; leurs concentrations sont généralement supérieures aux seuils de perception ; respectivement 0,5mg/L, 1mg/L et 0,2mg/L dans le vin (Bertrand, 1983 ; Etiévant, 1991).

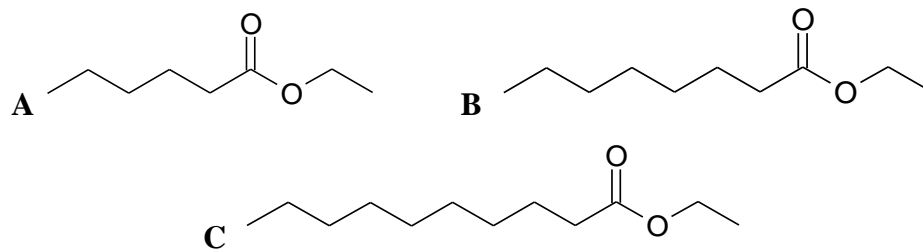


Figure 6 : Formules développées des esters éthyliques d'acides gras d'origine fermentaire. A : hexanoate d'éthyle, B : octanoate d'éthyle, C : décanoate d'éthyle

Les deux principaux esters acétiques d'alcools supérieurs sont l'acétate d'isoamyle et l'acétate de 2-phényléthanol (Figure 7). Les teneurs en acétate d'isoamyle dans les vins sont comprises entre 0,5 et 2mg/L et son seuil de perception est de 1,2mg/L. Il évoque l'odeur de banane caractéristique des vins primeurs (Bertrand, 1983 ; Etiévant, 1991). L'acétate de 2-phényléthanol est quant à lui présent jusqu'à des teneurs proches de 5mg/L dans les vins jeunes pour un seuil de perception de 3,8mg/L (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).

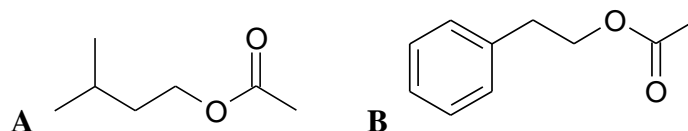


Figure 7 : Structures chimiques des esters acétiques d'alcools supérieurs. A : acétate d'isoamyle, B : acétate de 2-phényléthanol

Enfin, la fermentation malolactique (FML) entraîne le développement de lactate d'éthyle (Figure 8) dont les teneurs sont comprises entre 40 et 60mg/L. Cet ester caractéristique de la FML évoque des odeurs de beurre (Taillandier et Bonnet, 2005).

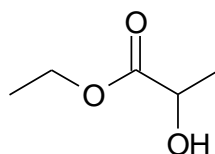


Figure 8 : Structure chimique du lactate d'éthyle

Plus récemment, les travaux de Lytra (2012) ont permis de mettre en évidence le rôle indirect du lactate d'éthyle agissant comme exhausteur naturel des notes fruitées retrouvées dans les vins rouges. Aussi, ce composé a pu être identifié comme le marqueur des arômes de mûre dans les vins rouges fruités (Falcao *et al.*, 2012).

iii. Thiols

Les travaux retrouvés dans la littérature ont permis de mettre en évidence la présence de divers thiols volatils dans les vins rouges dont le 3-sulfanylhexanol (3SH) qui semble être impliqué dans les arômes fruités (Bouchilloux *et al.*, 1998 ; Tominaga *et al.*, 1998 ; Blanchard, 2000). Sa présence a d'abord été détectée dans les vins blancs, puis dans les vins rouges issus des cépages Grenache, Merlot, Cabernet-Sauvignon et Cabernet franc (Bouchilloux *et al.*, 1998 ; Blanchard, 2000 ; Ferreira *et al.*, 2002). Le 3-sulfanylhexanol est retrouvé sous les deux formes énantiomères : la forme R évoque le zeste de pamplemousse, la forme S des odeurs de fruits de la passion. Leurs seuils de perception en solution hydroalcoolique sont de 50ng/L et 60ng/L respectivement (Tominaga *et al.*, 2006). Dans les vins rouges, le caractère fruits rouges est

plutôt accentué par la présence de ce composé, mais difficile à expliciter (Ferreira *et al.*, 2002). Les précurseurs non volatils et inodores du 3-sulfanylhexanol sont de type cystéinylés ou glutathionylés (Tominaga *et al.*, 1998 ; Peyrot des Gachons *et al.*, 2002). Le précurseur de ce thiol a été démontrée dans le moût de Cabernet-Sauvignon (Bouchilloux *et al.*, 1998). Un grand nombre de thiols a été détecté dans les vins rouges mais leur impact organoleptique sur l'arôme de ces vins reste à démontrer. Cependant, les travaux de Pineau (2007) laissent à penser que les thiols volatils et les composés soufrés ne sont pas véritablement impliqués dans le caractère fruité typique des vins rouges de Bordeaux puisque celui-ci demeure intact après l'addition de pHMB ou de sulfate de cuivre.

c) *Arôme tertiaire*

L'arôme tertiaire regroupe tous les composés qui ne sont pas d'origine biologique ou microbiologique. Il est composé des arômes cédés par le bois et des arômes du bouquet de vieillissement lors de l'élevage en bouteille (Bayonove *et al.*, 1998 ; Taillandier et Bonnet, 2005).

i. *Modification aromatique au cours de l'élevage en barrique*

Lors de l'élevage, les grands vins rouges sont presque toujours mis en contact avec le bois de chêne afin d'affiner leurs qualités olfactive et gustative.

Des phénols volatils provenant de la chauffe du bois de chêne sont cédés au vin au cours de son élevage : le plus abondant est l'eugénol (Figure 9a) qui évoque des nuances de clou de girofle (Chatonnet *et al.*, 1990). Des aldéhydes sont aussi apportés par le bois, comme par exemple le furfural (Figure 9b) et la vanilline (Figure 9c). Le furfural rappelle des odeurs d'amande amère et de torréfaction. Il est formé au cours de la chauffe des barriques (Guillén et Manzanos, 2002). Sa concentration dans le vin est comprise entre 0,002 à 8,8mg/L (Ho *et al.*, 1999 ; Ferreira *et al.*, 2000) et dépendra du degré de chauffe des douelles de la barrique ; l'espèce de chêne ainsi que sa provenance influencent également les teneurs retrouvées dans les vins (Chatonnet *et al.*, 1999). Bien que retrouvé abondamment dans le bois chauffé et le vin, son impact organoleptique sur l'arôme des vins demeure extrêmement faible. A l'inverse, la vanilline peut être retrouvée dans des concentrations dépassant le seuil de perception de 0.32mg/L dans les

vins rouges (Boidron *et al.*, 1988). Le furfurylthiol (Figure 9d) est aussi un composé issu de l'élevage en barrique. A l'inverse des composés précédemment décrits, ce thiol ne provient pas directement du bois mais d'une réaction entre le furfural cédé par le bois et le H₂S. Son seuil de perception est extrêmement bas, 0,4ng/L (Tominaga *et al.*, 2000), lui permet de conférer au vin des arômes de torréfaction tel que le café torréfié. Enfin, la whisky-lactone (Figure 9e), composé spécifique du bois de chêne, apporte au vin des nuances de noix de coco, lorsque ses teneurs sont supérieures au seuil de perception qui est de 40µg/L pour la forme *cis* en solution modèle et de 95µg/L pour la forme *trans* (Chatonnet, 1995).

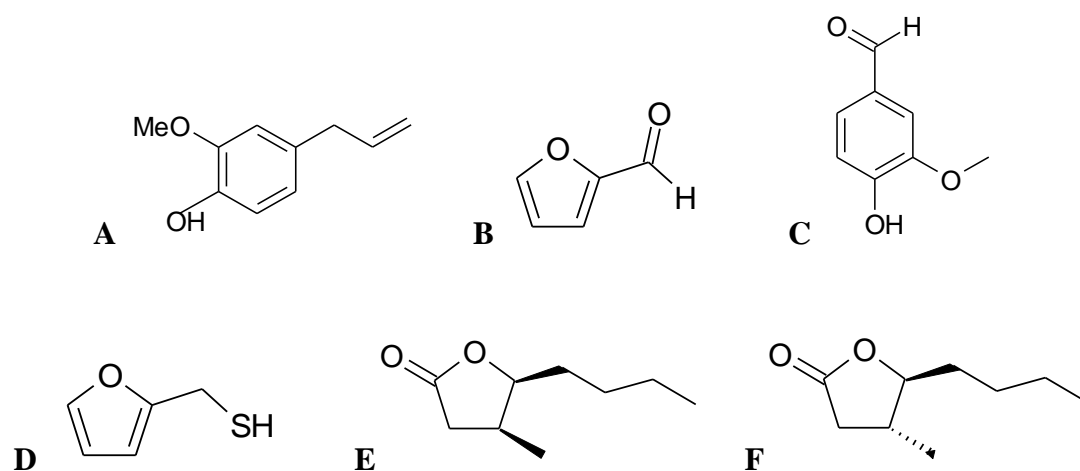


Figure 9 : Structures chimiques des composés volatils issus du bois de chêne. A : eugénol, B : furfural, C : vanilline, D : furfuryl thiol, E : *cis*-whisky lactone, F : *trans*-whisky lactone

ii. *Evolution aromatique au cours du vieillissement en bouteille*

Le bouquet de vieillissement du vin correspond à une lente évolution du vin en bouteille en conditions de réduction. Ce phénomène, tout d'abord associé à la perte d'arômes fermentaires, correspond à une atténuation variable de notes fraîches et fruitées (Jackson, 2009). Ce type de vieillissement, tout en conservant les arômes variétaux, permet au vin d'évoluer vers des arômes plus complexes et subtils, rappelant un mélange complexe de notes grillées, mentholées, voire truffées, reflétant ainsi une qualité organoleptique du vin supérieure à celle qu'il possédait au départ (Tominaga *et al.*, 2003a ; Tominaga *et al.*, 2003b ; Ribéreau-Gayon *et al.* 2004). La composition du vin jeune et les conditions de conservation en bouteille conditionnent le développement du bouquet de réduction. Celui-ci apparaît en l'absence d'oxygène et est associé

au développement de sulfure de diméthyle ou DMS (Figure 10). Les teneurs en DMS dans les vins après la mise en bouteille augmentent au cours du vieillissement, en fonction du temps de conservation et de la température de stockage (Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996 ; Picard *et al.*, 2015). Selon Picard *et al.* (2015), les concentrations retrouvées dans certains vins de Bordeaux conservés plus de 16 ans en bouteille et marqués à la dégustation par un bouquet de réduction, peuvent dépasser 140 µg/L.

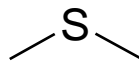


Figure 10 : Structure chimique du sulfure de diméthyle ou DMS

iii. Elevage oxydatif

Le vieillissement oxydatif correspond soit à un phénomène physico-chimique naturel (vins de Banyuls, Rivesaltes, Porto, ...), soit à un mécanisme de nature biologique caractérisant les vins « sous voile » (vins jaunes du Jura, Xérès, Tokaj, ...) (Bayonove *et al.*, 1998).

Des arômes caractéristiques des phénomènes d'oxydation vont alors se développer. Parmi eux, le sotolon est un composé clé de ce type d'élevage (Guichard *et al.*, 1997) et plus généralement de l'évolution oxydative des vins (Escudero *et al.*, 2000). Il confère aux vins une odeur caractéristique de noix ou de curry (Cutzach *et al.*, 1999), avec un seuil de perception dans le vin blanc sec de 8µg/L et des teneurs pouvant atteindre 350 µg/L dans les vins jaunes.

3. Connaissances actuelles sur les marqueurs moléculaires de l'arôme de fruits cuits des raisins et des vins rouges

Il est couramment observé que le moût issu de cépages dits à saveur simple, tels que le Merlot et le Cabernet-Sauvignon, évoque un arôme végétal lorsque les raisins sont récoltés trop tôt tandis qu'à maturité, l'arôme de ces raisins est peu intense (Ribéreau-Gayon *et al.* 2004). Bien entendu, les conditions climatiques, les pratiques viticoles et le millésime peuvent moduler son intensité aromatique. Le phénomène récent de récolte tardive voire de sur-maturation des baies entraînant le développement de nuances de fruits cuits dans le moût va directement impacter l'arôme du vin jeune qui comportera lui aussi ces mêmes nuances.

Pendant cette période de sur-maturation, il est admis que les phénomènes de migration entre la plante et le fruit sont considérablement réduits. Il se produit ainsi une concentration par évaporation de l'eau, tandis que se poursuivent les combustions respiratoires. Ainsi, lorsque les conditions climatiques le permettent, le phénomène de sur-maturation s'accompagne inéluctablement du flétrissement irréversible des baies. Il est possible de distinguer deux stades de sur-maturation : le stade de sur-maturation (assimilable au passerillage sur « souche ») (photo en annexe 9) et le stade de sur-maturation extrême allant jusqu'au dessèchement total de la baie (flétri sec) (photo en annexe 10). C'est à ces deux stades que le raisin, qui était jusqu'à présent quasiment inodore, acquiert une odeur caractéristique rappelant le pruneau et la figue. Ces odeurs sont également retrouvées dans les vins jeunes issus de leur vinification et plus fréquemment dans ceux élaborés à partir de raisins de Merlot. En effet, empiriquement, il est connu que ce cépage est plus précoce que le Cabernet-Sauvignon et par conséquent plus enclin à la sur-maturation.

Ainsi, bien que les odeurs « fruits cuits » des vins soient bien connues des œnologues et également des scientifiques, très peu de recherches ont été effectuées sur l'identification des composés volatils associés à cet arôme retrouvé à la fois dans les raisins et les vins.

Cette nuance de pruneau a d'abord été décrite puis caractérisée dans les Vins Doux Naturels. Le composé à l'origine de cette nuance est une molécule très odorante que nous venons de décrire : le sotolon (4,5-diméthyl-3-hydroxy-2-(5H)-furanone). Aux concentrations rencontrées dans ces vins (de 100 µg/L à 1000 µg/L), les descripteurs olfactifs associés à la présence de sotolon sont les fruits cuits, la noix, ou le pruneau (Cutzach *et al.*, 1998).

Plus récemment, les arômes de fruits cuits ont été associés au vieillissement prématuré des vins rouges (Pons *et al.*, 2008). De récents travaux ont montré que la 3-méthyl-2,4-nonanedione, dont l'odeur rappelle le noyau de pruneau lorsqu'elle est à faible concentration, est un marqueur de ce type d'évolution. Les teneurs retrouvées dans les vins rouges sont comprises entre 5ng/L et 330ng/L (Pons *et al.*, 2011b) et son seuil de perception est de 16ng/L. Selon ce même auteur, la γ -nonalactone (aux nuances de pêche sur-murie) pourraient être associées à la nuance de fruits cuits retrouvée dans certains vieux vins rouges. D'ailleurs, les travaux de Cooke *et al.* (2009) menés sur l'étude de la distribution des γ -lactones dans les vins australiens ont montré qu'elles étaient surtout spécifiques des vins rouges élaborés à partir de raisins de Cabernet-

Sauvignon. En effet, ces vins présentent des concentrations maximales en γ -lactones proches 40 $\mu\text{g/L}$ alors qu'elles atteignaient seulement 19 $\mu\text{g/L}$ dans les vins de Merlot.

Une autre lactone, la 5,6-dihydro-6-pentyl-2H(2)-pyranone également appelée massoia lactone (Figure 11) dont l'odeur évoque un mélange complexe de noix de coco, de pêche cuite et de figue, a récemment été identifiée dans les moûts et les vins rouges (Pons *et al.* 2011b). Dans les vins, ce composé présente un seuil de perception de 56 $\mu\text{g/L}$. Ses teneurs moyennes sont le plus souvent retrouvées à une concentration inférieure à celui-ci dans le vin rouge. Par conséquent, ce composé ne participe donc pas directement à l'arôme des vins rouges. Cette lactone est également présente dans les vins liquoreux et les vins blancs secs (Sarrazin, 2007) mais aux concentrations retrouvées dans ces vins, sa contribution aromatique est également limitée.

En revanche, dans le moût, son seuil de perception de 10 $\mu\text{g/L}$ et selon Pons *et al.* (2011b) les concentrations maximales pouvant atteindre 70 $\mu\text{g/L}$ indiquent qu'elle peut très probablement impacter l'arôme des moûts.

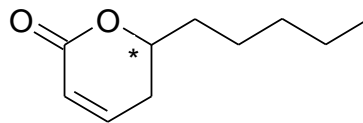


Figure 11 : Structure chimique de la massoia lactone

Enfin, les travaux sur la perception des nuances de fruits frais et de fruits cuits des vins rouges issus de cépages espagnols (San Juan *et al.* 2011) ont montré que le caractère fruits cuits de ces vins est bien corrélé avec les teneurs en phénylacétaldéhyde, méthional et β -damascénone. Selon cet auteur, ces derniers composés sont donc anti corrélés avec les nuances de fruits frais perçues dans les vins.

Le méthional et le phénylacétaldéhyde (Figure 12) sont des aldéhydes dont la contribution à l'arôme des vins blancs secs et également des vins rouges oxydés est bien décrite à ce jour (Escudero *et al.*, 2000 ; Silva Ferreira *et al.*, 2003 ; Culleré *et al.*, 2007). Le méthional évoque des odeurs de pomme de terre cuite, le phénylacétaldéhyde des odeurs lourdes de miel ou encore de cire. Ces deux aldéhydes sont formés par les réactions de Strecker via les acides aminés correspondants : la méthionine et la phénylalanine. Les teneurs retrouvées dans les vins rouges

sont comprises entre 0,7 et 21 μ g/L pour le méthional, et entre 20 et 126 μ g/L pour le phénylacétaldéhyde. Leurs seuils de perception en solution modèle sont respectivement de 0,7 μ g/L et 4 μ g/L (Sarrazin, 2007).

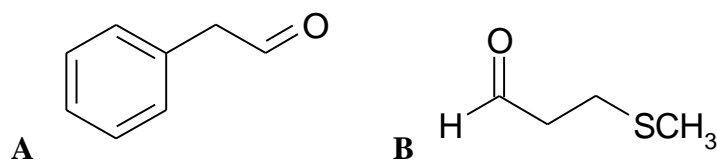


Figure 12 : Structures chimiques du phénylacétaldéhyde (A) et du méthional (B)

Ainsi, il apparait que la connaissance des marqueurs moléculaires des nuances de fruits cuits retrouvées dans les moûts et les vins est très limitée à ce jour. Les différentes méthodes d'analyse utilisées lors de notre travail, devraient nous permettre d'approfondir la connaissance des marqueurs moléculaires responsables de ces nuances.

III. Méthodes d'analyse des composés volatils odorants

1. Méthodes d'extraction

Le vin est une matrice très complexe, constituée de centaines de composés volatils présentant des propriétés chimiques extrêmement variables. Ainsi, pour l'identification et la quantification de nouvelles molécules par chromatographie en phase gazeuse couplée à des détecteurs *ad hoc*, il est nécessaire d'extraire qualitativement et quantitativement, de façon sélective ou non, les molécules présentes dans le vin. La littérature scientifique abonde en techniques analytiques en adéquation avec l'objectif de l'analyste (Blanch *et al.* 1991, Etievant, 1987). Aussi, nous nous attarderons plus particulièrement sur les techniques d'extraction liquide/liquide et d'espace de tête.

a) *Extraction liquide-liquide*

Pour l'extraction non sélective d'un grand nombre de molécules organiques, y compris celles présentes à l'état de traces, l'extraction liquide-liquide est une technique de choix (Ortega-Heras *et al.*, 2002). C'est une méthode simple et rapide. L'extraction est basée sur la différence

d'affinité d'un soluté entre deux phases liquides non miscibles (solvant organique – eau). Différents solvants doivent être testés afin d'optimiser l'extraction. Ces derniers doivent avoir une forte affinité pour les composés volatils et être non miscibles avec le vin. Ils doivent aussi avoir un point d'ébullition faible ($T_{eb} < 50^{\circ}\text{C}$) afin de permettre une concentration rapide et douce sans perte de composés volatils d'intérêt (Etiévant, 1987). Les solvants couramment utilisés pour l'extraction de composés odorants du vin sont le pentane, l'éther diéthylique, le dichlorométhane ou encore des mélanges azéotropiques de solvants de polarité moyenne. Dans un contexte d'analyse des extraits par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie, il est utile d'évaluer la représentativité de l'extrait ainsi obtenu. Celle-ci est communément réalisée par un test de similarité en déposant de l'extrait sur une mouillette ; l'adéquation entre qualité de l'odeur de l'extrait et celle recherchée dans le vin ou le moût est évaluée. Une bonne note de similarité odorante correspond à une extraction liquide-liquide *ad hoc*. Enfin, du point de vue analytique, cette approche permet d'effectuer des dosages présentant une bonne reproductibilité.

b) Micro-extraction sur phase solide (SPME)

La SPME est une méthode d'extraction sans solvant, inventée par Pawliszyn et Alexandrou (1989), qui respecte la structure des échantillons. C'est une méthode simple basée sur les capacités de sorption/désorption d'une phase solide. Contrairement à l'extraction liquide-liquide, cette méthode permet d'extraire sélectivement les composés volatils du moût ou du vin (Vas *et al.*, 1998a et b). Le principe de base repose sur l'existence d'un équilibre thermodynamique entre la quantité de molécules adsorbées sur la fibre et la quantité présente dans l'échantillon. L'extraction des molécules est réalisée par sorption sur une fibre en silice fondue revêtue d'un polymère ou d'un mélange de polymères, placée à l'intérieur d'une aiguille creuse amovible. Cette dernière est, soit introduite directement dans l'échantillon s'il s'agit de liquide simple ou de gaz, soit exposée à l'espace de tête pour les échantillons liquides plus complexes. La nature chimique de la phase solide est un des éléments clés de cette méthode puisqu'elle détermine la sélectivité de l'extraction (Fang et Qian, 2005 ; Lopez *et al.*, 2007). Les phases les plus utilisées pour l'analyse des composés volatils odorants présents à l'état de traces dans les vins sont celles à base de divinylbenzene (DVB), carboxen (CAR) et polydiméthylsiloxane (PDMS) ou celles à base de polydiméthylsiloxane (PDMS) et divinylbenzene (DVB). L'affinité des composés volatils pour ces polymères sera modulée par

le pH de l'échantillon, la présence de sels pouvant augmenter la volatilité, mais aussi par la propriété des polymères à adsorber les composés de polarités variées.

Dans le cadre de l'analyse des composés volatils, la technique d'extraction SPME est souvent couplée avec une méthode séparative telle que la chromatographie en phase gazeuse. Ainsi, après la phase d'extraction, la fibre est désorbée dans l'injecteur chauffé à haute température (entre 240 et 270°C) pour que les composés volatils soient séparés par chromatographie en phase gazeuse. D'autre part, cette technique d'extraction est aussi utilisée pour la CPG-O (Gürbüz *et al.*, 2006). Cette approche peut cependant présenter des inconvénients car la SPME est une extraction sélective et la quantité de zones odorantes sera donc réduite.

C'est une méthode simple avec, pour avantage majeur, l'absence d'utilisation de solvant. De plus, elle peut être utilisée pour de faibles volumes d'échantillons (Lopez *et al.*, 2007).

2. Méthodes de séparation et d'identification des composés volatils

a) La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode séparative parmi les plus employées pour l'étude des composés volatils odorants du vin. Elle permet d'analyser qualitativement et quantitativement des mélanges complexes de composés volatils ou de composés qui peuvent être volatilisés (Etiévant, 1987). Les composés sont séparés selon leur point d'ébullition et la différence des coefficients de partage entre la phase stationnaire et le gaz vecteur. Ces mécanismes de séparation sont dépendants de la polarité de la phase stationnaire. Sur colonne polaire, les composés sont séparés selon leur polarité et leur température d'ébullition ; sur colonne apolaire, ils sont séparés selon leur température d'ébullition. Enfin, les composés sont détectés en sortie de colonne grâce à des détecteurs, soit non spécifiques comme le FID (Détecteur à ionisation de flamme), soit spécifiques comme le détecteur FPD pour les composés soufrés ou le détecteur NPD pour les composés azotés. Pour l'étude des composés odorants du vin, la CPG est souvent couplée à l'olfactométrie et/ou la spectrométrie de masse.

b) Détection des zones odorantes par Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O), aussi appelée CPG-sniffing, est basée sur l'évaluation sensorielle de l'éluat de la colonne chromatographique (Etievant, 1987). Le nez humain étant plus sensible que la plupart des détecteurs physiques, cette technique permet de détecter les zones odorantes les plus intéressantes et de les associer à des temps de rétention.

Pour avoir des résultats quantitatifs, certaines méthodes sont utilisées comme les techniques CHARM (Combined Hedonic Aroma Response Measurement) et AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) basées sur le seuil de perception de dilutions successives de l'extrait brut et la durée du stimulus pour la méthode CHARM (Grosch, 1994 ; Ullrich et Grosch, 1987 ; Acree *et al.* 1984). Le dégustateur indique les moments où il détecte l'odeur et donne la description de cette odeur. Les difficultés rencontrées avec ces deux techniques sont d'une part la mesure objective de l'intensité de l'odeur, d'autre part la pertinence de la réponse du dégustateur. Une méthode basée sur les fréquences de détection en fonction du nombre de fois où le composé est détecté (NIF : Nasal Impact Frequency) et une autre méthode basée sur le nombre de détections et la durée des sensations (SNIF : Surface of Nasal Impact Frequency) sont également proposées dans la littérature ; ces techniques ont aussi leurs limites car, pour que les résultats soient cohérents, il faut avoir un panel de 8 à 10 évaluateurs sélectionnés pour leurs aptitudes sensorielles.

La CPG-O peut également estimer les concentrations des composés volatils. Cette approche est souvent complétée par les techniques les plus sensibles et les plus sélectives comme la CPG couplée à la spectrométrie de masse (Pollien *et al.*, 1999).

c) Identification des zones odorantes par Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse et à l'olfactométrie (CPG-CPG-SM-O)

Le vin est une matrice complexe et le manque de résolution des analyses par CPG-SM peut compromettre la qualité de l'identification d'un composé ou de sa quantification. Aussi, la

chromatographie bidimensionnelle semble être une bonne alternative comme aide à la résolution de problèmes analytiques associés à la complexité de la matrice.

Elle est plus résolutive que la CPG-O pour les composés présents à l'état de traces dans une matrice complexe (Herrero *et al.*, 2009). La CPG multidimensionnelle peut être couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse. Elle consiste en un couplage de deux colonnes chromatographiques ayant des mécanismes de séparation différents, avec un transfert partiel des composés séparés sur la première colonne vers la seconde colonne, pour que les performances de séparation de chacune des colonnes soient préservées (système heart-cutting). Chaque colonne est contenue dans un four. Elles communiquent par l'intermédiaire d'une « pièce croix » permettant de réguler la pression entre les deux colonnes et d'une ligne de transfert où la température est contrôlée. Grâce à cette méthode, on peut mettre en évidence les molécules qui seraient co-éluées en CPG monodimensionnelle. Cependant, en dépit du pouvoir résolutif de cette technique, une étape de pré-purification de l'extrait brut est parfois indispensable pour réussir l'identification des composés odorants présents à l'état de traces (Pons *et al.*, 2008b ; Stamatopoulos *et al.*, 2014). La CPG-CPG couplée à l'olfactométrie ainsi qu'à la spectrométrie de masse doit donc pouvoir faciliter l'identification de composés volatils clés.

IV. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle est l'ensemble des méthodes qui permettent d'évaluer les qualités organoleptiques d'un produit ; elle fait intervenir les organes des sens. Comme l'ont écrit Peynaud et Blouin (2006) : « *Déguster, c'est goûter avec attention un produit dont on veut apprécier la qualité ; c'est rechercher les différents défauts et les différentes qualités ; c'est en un sens analyser, étudier.* » En effet, l'évaluation sensorielle permet d'analyser, d'apprécier, de connaître et de décrire les propriétés organoleptiques d'un produit. Il existe trois types d'analyses sensorielles : les épreuves discriminatives et descriptives qui sont utilisées pour la quantification, la qualification et la détermination de l'existence de différences entre les produits et les épreuves hédoniques qui ciblent les consommateurs afin de définir leurs préférences par rapport à différents produits (Martin et De Revel, 1999).

1. Epreuves discriminatives

Les tests de discrimination sont utilisés pour examiner l'existence de différences sensorielles entre deux ou plusieurs produits. Plusieurs échantillons sont présentés au panel parmi lesquels certains sont identiques. Chaque dégustateur doit alors juger les différences globales entre les produits, sans précision liée à la nature ou à l'intensité de celles-ci. Parmi ces épreuves, « l'épreuve triangulaire » ou « test triangulaire » est la plus utilisée (Martin et De Revel, 1999). Les dégustateurs sont confrontés à 3 échantillons dont 2 sont identiques (NF EN ISO 4120 : 2007). Ces échantillons sont organisés dans les six combinaisons possibles : AAB, ABA, BAA, BBA, BAB, ABB. Il est demandé à chaque dégustateur, dans chaque combinaison qui lui est présentée, quel est l'échantillon qui se distingue des deux autres. L'interprétation statistique des résultats repose sur une table de la loi binomiale disponible dans la littérature afin de déterminer le nombre minimal de bonnes réponses nécessaire pour conclure à une différence significative.

2. Epreuves descriptives

Les tests descriptifs sont utilisés pour déterminer la nature des différences perçues entre des échantillons et les quantifier. Ces épreuves sont donc appliquées à des échantillons dont les différences sensorielles sont nettement perceptibles. Leur mise en œuvre nécessite pour la plupart un panel entraîné et un traitement statistique complexe (Martin et De Revel, 1999).

Deux types de tests descriptifs sont habituellement utilisés :

- Epreuves descriptives fondées sur un seul critère sensoriel : le panel est alors entraîné pour un seul critère. Parmi elles, on distingue les épreuves de classement qui consistent à classer par ordre d'intensité croissante ou décroissante des échantillons présentés simultanément selon le critère demandé et les épreuves à notation simple qui permettent de comparer l'intensité du critère étudié entre plusieurs échantillons à l'aide d'une échelle de notation.

- Epreuves descriptives fondées sur le profil sensoriel : le panel est entraîné pour un ensemble de descripteurs définis. Chaque descripteur représente une grandeur sensorielle simple. Chaque dégustateur entraîné doit alors noter les échantillons à partir d'une échelle graduée selon les descripteurs choisis. Les résultats obtenus sont traités statistiquement pour obtenir un profil sensoriel.

3. Epreuves hédoniques

Les tests hédoniques s'attachent à la dimension de « plaisir ». En effet, ils permettent de rechercher les sources de satisfaction pour le dégustateur sur différents aspects du produit. Ces tests requièrent un panel ordinaire non entraîné afin d'appréhender les comportements des consommateurs non avertis (Martin et De Revel, 1999).

PARTIE 2

MATERIELS ET METHODES

I. Analyse des composés volatils

1. Produits chimiques employés

Les composés volatils utilisés ont été fournis par les firmes Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France), à l'exception de la massoia lactone (Robertet, Grasse, France), la 3-méthyl-2,4-nonanedione (Chemos GmbH, Allemagne) et la (Z)-1,5-octadien-3-one (Nestlé®, Suisse).

Le dichlorométhane utilisé pour les extractions liquide-liquide ainsi que le méthanol utilisé pour l'ionisation chimique pour la CPG-SM ont été fournis par Prolabo (Fontenay sous Bois, France) et l'éthanol par Merck (Darmstadt, Allemagne). L'hélium, ainsi que le dioxyde de carbone ont été fournis par Linde (France) et présentent une pureté industrielle.

Les puretés des composés et solvants utilisés dans cette étude sont reportés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Puretés des composés et solvants utilisés pour cette étude

Produits	Pureté	Produits	Pureté
3-octanol	99%	(Z)-1,5-octadien-3-one	97%
2-octanol	99%	3-méthyl-2,4-nonanedione	99%
Ethyl maltol	99%	dichlorométhane	99,9%
δ -décalactone	98%	méthanol	100%
Massoia lactone	99%	éthanol absolu	99,9%
γ -nonalactone	98%	Furanéol	99%
γ -décalactone	98%	Homofuranéol	97%

2. Techniques d'extraction

a) L'extraction liquide-liquide de moût ou de vin

A partir d'un volume de 100 mL de moût ou de vin placé dans une fiole ambrée de 250 mL, on réalise trois extractions successives avec 10, 5 et 5 mL de dichlorométhane. A chaque ajout de

solvant, le mélange est placé sous agitation magnétique (750 rpm) durant 10, 5 et 5 minutes respectivement. Entre chaque extraction, le mélange est placé dans une ampoule à décanter de 150 mL pour la séparation des phases aqueuse et organique. Les trois phases organiques sont récupérées puis assemblées dans un pilulier. L'émulsion contenue dans la phase organique est cassée sous agitation magnétique (150 rpm) et les quelques gouttes de phase aqueuse restante sont éliminées à l'aide d'une pipette pasteur. La phase organique est ensuite séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer l'eau résiduelle, puis concentrée à température ambiante sous un flux d'azote inerte (environ 100 mL/min) jusqu'à un volume final de 0,5 mL.

Pour les analyses quantitatives par CPG-SM, on ajoute successivement dans chaque échantillon de moût ou de vin, avant l'extraction liquide-liquide, 100 μL d'éthyl maltol (100 mg/L dans l'éthanol) ainsi que 100 μL de 3-octanol (100 mg/L dans l'éthanol) correspondant aux étalons internes pour le dosage des composés volatils par CPG-SM.

b) La micro extraction sur phase solide (SPME)

Dans un vial ambré de 20 mL, on ajoute successivement 5 g de sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ pour favoriser la volatilisation des composés, 3 μL d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétracétique ; 60 g/L dans l'eau ultrapure milli-Q), 10 μL de 3-octanol (100 mg/L, EtOH) et 10 μL de 2-octanol (100 mg/L, EtOH) pour les étalons internes, 9 mL d'eau ultrapure milli-Q (Merck Millipore, Etats-Unis) et enfin 1 mL de l'échantillon de moût ou de vin à analyser. L'espace de tête du vial est inerté avec du dioxyde de carbone avant d'être fermé hermétiquement par un septum. Le vial est ensuite placé sur le passeur automatique CTC Analytics (Pal System). Avant extraction, ce dernier est préchauffé dans une enceinte à 50°C durant 5 minutes. La fibre SPME contenant une phase à base de polydiméthylsiloxane/divinylbenzène (PDMS/DVB, longueur : 1 cm, épaisseur de film : 65 μm), préalablement conditionnée à 250°C pendant 30 minutes, est alors introduite dans l'espace de tête de l'échantillon. Après 25 min d'extraction sous agitation à 50°C, la fibre est désorbée dans l'injecteur du chromatographe.

3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse

a) La chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie

Le chromatographe utilisé est un Hewlett Packard 5890 (Agilent Technologies, Santa Clara, Etats Unis) équipé d'un sniffing-port ODO-I (SGE, Victoria, Australia) ainsi que d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Ce dernier est exclusivement utilisé pour la détection d'une solution d'alcane linéaire pour le calcul des indices linéaires de rétention. Le sniffing-port est balayé par un flux d'azote inerte humidifié (100 mL/min). La CPG-O est pratiquée directement à la sortie de la colonne chromatographique, sans post-colonne.

Un volume de 2 µL d'extrait est injecté en mode splitless (température de l'injecteur : 230°C, temps de fermeture : 60 s, débit de purge : 50 mL/min) Deux colonnes capillaires ont été utilisées pour réaliser ces analyses : une colonne polaire BP20 (SGE, Victoria, Australia) avec un greffage au polyéthylène glycol (50 m – 0,22 mm – 0,25 µm) et une colonne apolaire BPX5 (SGE, Victoria, Australia) avec un greffage à base de 5% de phenyl polysilphenylène-siloxane (50 m – 0,22 mm – 0,25 µm). La température initiale du four est de 45°C pendant une minute. Ensuite, le four suit la programmation en température de 3°C par minute jusqu'à l'isotherme finale de 230°C maintenu pendant 20 minutes. Le gaz vecteur est l'hydrogène (Linde, France) avec une pression constante en tête de colonne de 22 Psi.

b) Calcul des indices de rétention linéaire (IRL)

Les indices linéaires de rétention ou Kovats, sont déterminés à partir du temps de rétention d'alcane linéaires (Kovats, 1958). La solution d'alcane à 1mg/L dans du pentane est injectée (2µL) dans les mêmes conditions que l'extrait à analyser. A partir du temps de rétention de chaque composé, on détermine son indice linéaire de rétention à l'apex du pic grâce à la formule ci-dessous :

$$\text{Indice de rétention} = \frac{Tr(\text{composé}) - Tr(\text{alcane précédent})}{Tr(\text{alcane suivant}) - Tr(\text{alcane précédent})} \times 100 + Cn \times 100$$

Cn est le nombre d'atomes de carbone de l'alcane précédent et Tr le temps de rétention.

c) Identification des composés volatils par CPG-O-MS

1 μL d'extrait obtenu par extraction liquide-liquide est injecté en mode splitless (Température de l'injecteur PTV : 150°C, Splitless time : 1,20 minutes, Programmation température : 14,5°C/sec jusqu'à 230°C, débit de purge : 50mL/min) dans un chromatographe Trace CPG Ultra (Thermo Scientific, Illkirch, France) couplé à un spectromètre de masse DSQ II (Thermo Scientific, Illkirch, France) fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV, température Source : 210°C). La ligne de transfert est maintenue constante à 210°C durant l'analyse. Les conditions chromatographiques sont similaires à celles décrites pour la CPG-O. La pression en tête de colonne est de 187 kPa pour un débit constant de 1,3 mL/min. A la sortie de la colonne chromatographique, le flux de gaz est réparti de façon équivalente entre le port olfactométrique (ODP) et le spectromètre de masse (MSD). Les colonnes utilisées pour l'ODP et le MSD sont des colonnes en silice désactivée de 85,6 cm et 84,1 cm respectivement, avec un diamètre interne de 0,15 mm et 0,1 mm et sont raccordées entre elles à la colonne capillaire via un tube Y en verre borosilicaté. Le calcul des dimensions des colonnes pour l'ODP et le MSD a été réalisé grâce au logiciel Gerstel ODP column calculator (Gerstel, Allemagne).

Deux colonnes capillaires identiques à celles utilisées pour l'analyse en CPG-O ont été utilisées : une colonne polaire BP20 (50 m – 0,22 mm – 0,25 μm) et une colonne apolaire BPX5 (50 m – 0,22 mm – 0,25 μm).

Les ions détectés sont compris dans une gamme de m/z comprise entre 40 et 250. L'acquisition des résultats est réalisée avec le logiciel Xcalibur (Thermo Scientific, Illkirch, France) associé à la bibliothèque de spectres de masse NIST (National Institute of Standards and Technology-NIST, Gaithersburg, MD, USA) ainsi qu'à la base de données Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds (2nd edition, Wiley). Les composés volatils ont été identifiés par comparaison des spectres de masse et des IRL obtenus sur les deux colonnes chromatographiques à ceux répertoriés dans les bases de données.

d) Dosage des furanones, de la massoia lactone et de l'abhexone

Un volume de 1 μ L d'extrait organique obtenu par extraction liquide-liquide est injecté par un passeur automatique AI/AS 3000 (Thermo Scientific, Illkirch, France). Le matériel ainsi que les conditions chromatographiques sont similaires à ceux de l'analyse par CPG-O-MS décrite précédemment. Une colonne polaire BP20 (SGE, 50 m – 0,25 mm – 0,25 μ m) a été utilisée pour la séparation du furanéol, de l'homofuranéol et de la massoia lactone. La quantification des composés volatils est réalisée avec le mode SIM (Selected Ion Monitoring) en sélectionnant les ions spécifiques de chaque molécule. Le dosage est effectué en mesurant le rapport de l'abondance des ions caractéristiques pour une molécule sur celle des ions caractéristiques de l'étalon interne. Les ions utilisés pour leur quantification sont répertoriés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Ions utilisés pour la détection et la quantification des furanone, de la massoia lactone, de l'abhexone et des cétones de Strecker

Composés	Type d'extraction	Mode d'ionisation	Ions utilisés pour la qualification (m/z)	Ions utilisés pour la quantification (m/z)
3-octanol (étalon interne)	Liquide/Liquide	EI	71	71
Ethyl maltol (étalon interne)	Liquide/Liquide	EI	140	140
Massoia lactone	Liquide/Liquide	EI	97, 67	97
Furanéol	Liquide/Liquide	EI	128, 85	128
Homofuranéol	Liquide/Liquide	EI	142, 99	142
Abhexone	Liquide/Liquide	EI	113	113

e) Dosage des lactones et de la 3-methyl-2,4-nonanedione

Après l'étape d'extraction par micro extraction sur phase solide (SPME), la fibre est désorbée durant 9 minutes dans l'injecteur dont la température est de 230°C (temps de fermeture : 4 min ; débit de purge : 50 mL/min). L'analyse est réalisée sur un chromatographe Varian 240-4000 CPG/MS (Agilent, Santa-Clara, Etats-Unis) équipé d'un spectromètre de masse de type trappe ionique. Les conditions en spectrométrie de masse sont les mêmes que celles utilisées dans les travaux de Pons A. *et al.* (2011a). La colonne capillaire utilisée est une colonne polaire BP20 (SGE ; 60 m - 0,25 mm - 0,5 μ m). La programmation en température est la suivante : isotherme initiale de 1 min à 40°C, puis 3°C/min jusqu'à 190 °C puis 15°C/min jusqu'à l'isotherme finale de 20 min à 240°C. Le gaz vecteur est l'hélium avec une pression en tête de colonne 22 psi et

un débit constant de 1 mL/min. Le gaz réactant utilisé pour l'ionisation chimique est le méthanol. Le 3-octanol (étalon interne pour la MND) et la MND sont ionisés par ionisation chimique. Le 2-octanol (étalon interne des lactones) et les lactones sont ionisés par impact électronique. La quantification des composés volatils est réalisée avec le mode SIS (Selected Ion Storage) en sélectionnant les ions spécifiques de chaque molécule. La quantification est effectuée en mesurant le rapport de l'abondance des ions caractéristiques pour une molécule sur celle des ions caractéristiques de l'étalon interne. Les ions utilisés pour leur quantification sont répertoriés dans le Tableau 4. L'acquisition des résultats est réalisée avec le logiciel MSWS (VARIAN).

Tableau 4 : Ions utilisés pour la détection et la quantification des lactones et de la 3-méthyl-2,4-nonanedione

Composés	Type d'extraction	Mode d'ionisation	Ions utilisés pour la qualification (<i>m/z</i>)	Ions utilisés pour la quantification (<i>m/z</i>)
3-méthyl-2,4-nonanedione	SPME	CI*	171	171
γ-nonanalactone	SPME	EI	85	85
γ-décalactone	SPME	EI	85	128
δ-décalactone	SPME	EI	99	99
3-octanol (étalon interne)	SPME	CI*	71	71
2-octanol (étalon interne)	SPME	EI	55	55

* Méthanol

f) Dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one

Dans un vial ambré de 20 mL, on ajoute successivement 6 g de sulfate d'ammonium (NH₄)₂SO₄, 10 µL de 2-octanol (100mg/L, EtOH) comme étalon interne, 5 mL d'eau ultrapure milli-Q (Merck Millipore, Etats-Unis) et enfin 5 mL d'échantillon de moût ou de vin à analyser. Le vial est inerté avec du dioxyde de carbone avant d'être fermé hermétiquement par un septum. Le vial est ensuite placé sur le passeur automatique CTC Analytics (Pal System). Le vial est tout d'abord préincubé à 50°C durant 5 minutes, avant la phase d'extraction qui se déroule durant 30 min à la même température avec une fibre SPME, composée d'un mélange de polymères, DVB/CAR/PDMS, préalablement conditionnée à 270°C pendant 1 heure.

Le chromatographe ainsi que les paramètres d'injection sont les mêmes que pour le dosage de la MND et des lactones. La programmation en température est la suivante : isotherme initiale de 1 min à 40°C, puis 3°/min jusqu'à 142°C puis 80°C/min jusqu'à l'isotherme finale de 5 min à 260°C. Le gaz vecteur est l'hélium avec une pression en tête de colonne 22 psi et le gaz utilisé pour l'ionisation chimique est le méthanol. Le 2-octanol et la (Z)-1,5-octadien-3-one sont ionisés par ionisation chimique en mode positif. La quantification est réalisée avec le mode SIS en sélectionnant les ions spécifiques de chaque molécule : m/z 55 pour le 2-octanol ; m/z 125 pour la (Z)-1,5-octadien-3-one. Le dosage est effectué en mesurant le rapport de l'abondance des ions caractéristiques pour une molécule sur celle des ions caractéristiques de l'étalon interne.

g) Séparation des énantiomères des lactones par chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse (CPG-CPG-SM)

L'analyse énantiosélective a été réalisée par CPG-CPG-SM. Deux chromatographe 7890A (Agilent Technologies, Santa-Clara, Etats-Unis) sont montés en série et couplés à un spectromètre de masse de haute résolution de type temps de vol : AccuTOF JMS-T100CPG (JEOL, Japon).

L'analyse bidimensionnelle est asservie à un système MCS2 (Multi-Column Switching) de la société Gerstel (Allemagne). La première colonne de type polaire BP20 (SGE, 50 m – 0,22 mm – 0,25 μ m) est reliée au système « crosspiece » où les composés sont, soit éliminés, soit piégés. Une colonne de très faible diamètre interne (50 μ m) relie le crosspiece à un détecteur (FID, Olfactométrie).

Le logiciel fourni par la société Gerstel permet de programmer les différents « cuts » définissant la plage durant laquelle les composés sont piégés. Les composés piégés sont par la suite transférés sur la seconde colonne chirale en silice fondue greffée avec une phase composée de Diacetyl tertbutylsilyl-BETA-Cyclodextrine (Mega Dex DAC Beta : 25 m – 0,25 mm – 0,25 μ m), couplée au spectromètre de masse.

Un volume de 1 μL d'extrait organique est injecté manuellement dans l'injecteur « on column » du CPG1 (Température injecteur : 55°C constante pendant 1 minute puis 150°C/min jusqu'à 250°C pendant 20 minutes, Pression tête de colonne : 215 kPa, septum purge flow : 1 mL/min). La pression en tête de colonne est calculée (Gerstel), de telle manière que le débit soit constant dans les deux colonnes durant l'analyse. La programmation en pression est de 215 kPa pendant 1 minute, puis de 1,695 kPa/min jusqu'à 293,4 kPa pendant 20 minutes. La pièce croix entre les deux colonnes envoie un gaz vecteur (He, Linde, France) à une pression de 130 kPa jusqu'à 40 minutes, puis suit une programmation de 3,5 kPa/min jusqu'à la pression finale de 200,7 kPa. Entre 25,5 et 40 minutes ont lieu les « cut » successifs correspondants au transfert des lactones sur la deuxième colonne.

La programmation en température du premier four (CPG1) est la suivante : 45°C durant 1 min, puis 3°C/min jusqu'à 230°C, avec une isotherme finale de 20 minutes. La programmation en température du second four (CPG2) est la suivante : 55°C durant 1 min, puis 3°C/min jusqu'à 230 °C, avec une isotherme finale de 20 minutes. Le CPG2 est couplé au spectromètre de masse par la ligne de transfert qui est maintenue à 230°C. L'acquisition des masses se fait entre 40 et 250 m/z . Le gaz vecteur utilisé est l'hélium.

L'acquisition des résultats est réalisée avec le logiciel Mass Center 2.4.0v (JEOL, Japon).

h) Séparation et identification des composés volatils par chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse (CPG-CPG-SM)

Les analyses par CPG-CPG-SM ont été réalisées avec le même appareil que décrit précédemment pour la séparation des énantiomères.

La colonne du CPG1 est polaire (BP20, SGE : 30 m – 0,22 mm – 0,5 μm) et celle du CPG2 est apolaire (BPX5, SGE : 50 m – 0,22 mm – 0,25 μm).

Un volume de 1 μL d'extrait organique est injecté manuellement dans l'injecteur split/splitless du CPG1 mis à 230°C. La pression en tête de colonne est calculée (Gerstel), de telle manière que le débit soit constant dans les deux colonnes durant l'analyse. La programmation en pression est de 215 kPa pendant 1 minute, puis de 1,62 kPa/min.

La programmation en température du premier four (CPG1) est la suivante : 45°C durant 1 min, puis 3°C/min jusqu'à 230°C, avec une isotherme finale de 20 minutes. La programmation en température du second four (CPG2) est la suivante : 55°C durant 1 min, puis 3°C/min jusqu'à 230°C, avec une isotherme finale de 20 minutes. Le CPG2 est couplé au spectromètre de masse par la ligne de transfert qui maintenue à 230°C. L'acquisition des masses se fait entre 40 et 250 *m/z*. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium. L'acquisition des résultats est réalisée avec le logiciel Mass Center 2.4.0v (JEOL, Japon).

II. Incidence du SO₂ sur les teneurs en furanéol et (Z)-1,5-octadien-3-one

Un milieu modèle moût (220 g/L Fructose + Glucose ; 5 g/L Acide tartrique ; pH 3,5) et un milieu modèle vin (12% vol. éthanol ; 5 g/L Acide tartrique ; pH 3,5) sont préparés en volume de 1 L.

500 mL de milieu modèle moût et de milieu modèle vin sont prélevés et supplémentés par 250 ng/L de (Z)-1,5-octadien-3-one ; les 500 mL de chaque milieu sont supplémentés par 250 µg/L de furanéol.

120 mL du milieu moût + furanéol, milieu moût + (Z)-1,5-octadien-3-one, milieu vin + furanéol et milieu vin + (Z)-1,5-octadien-3-one sont prélevés et stockés, à l'abri de l'oxygène, dans des bouteilles ambrées en verre de 125 mL dans l'obscurité. Ces échantillons sont les échantillons témoins, non sulfités.

Ensuite, 120 mL du milieu moût + furanéol, milieu moût + (Z)-1,5-octadien-3-one, milieu vin + furanéol et milieu vin + (Z)-1,5-octadien-3-one sont prélevés et stockés, à l'abri de l'oxygène, dans des bouteilles ambrées en verre de 125 mL. Avant d'être placés dans l'obscurité, ils sont sulfités à hauteur de 30 mg/L de SO₂ total.

Ces essais ont été réalisés en duplicata. Après une semaine passée dans l'obscurité et à l'abri de l'oxygène, les échantillons sont analysés selon leur méthode chromatographique respective détaillée précédemment.

III. Préparation des milieux modèles de moût (MS)

Ce milieu synthétique de composition proche du moût a été élaboré et validé au laboratoire par Marullo *et al.* (2005). Sa composition est détaillée dans le Tableau 5. Il est systématiquement utilisé le jour de sa préparation.

Tableau 5 : Composition du milieu modèle (Marullo *et al.*, 2005)

Composés	Concentration finale
Glucose et Fructose	190 g/L
Acide Tartique	3 g/L
Acide Citrique	0,3 g/L
Acide Malique	0,3 g/L
Phosphate de Potassium	2 g/L
Sulfate de Magnésium	0,2 g/L
Sulfate d'Ammonium	0,3 g/L
Myo Inositol	0,3 g/L
	Volume
Acides Aminés *	6,44 mL/L
Oligoéléments *	1 mL/L
Vitamines *	1 mL/L
Facteur anaérobie*	1 mL/L
Hydroxyde de Potassium	Jusqu'à pH=3,5

* Composition détaillée dans les travaux de Marullo *et al.* (2005)

IV. Protocole de préparation de baies sur-muries en conditions contrôlées au laboratoire

Les essais ont été réalisés à partir de raisins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon issus d'un cru de l'appellation Saint Julien, millésime 2012, prélevés à maturité (telle que définie par le directeur technique) et conservés dans des sacs de congélation par lot de 3 kg environ à -20°C.

Les grappes congelées sont décongelées la veille pour le lendemain en chambre froide à 4°C pendant une nuit puis pendant 1 heure environ à température ambiante et séchées à l'aide d'un papier absorbant. Environ 1 kg de grappes est éraflé et pressé manuellement et délicatement sous CO₂. Le moût ainsi obtenu constitue le moût témoin.

Les raisins provenant du même lot ont également été soumis à des expériences de sur-maturation artificielle. Pour ce faire, les baies sont placées dans une étuve Climacell (Fischer Bioblock Scientific) qui dispose d'une régulation de l'intensité lumineuse, de la température et de l'hygrométrie ainsi que de la ventilation. Afin d'éliminer le risque de développement de *Botrytis cinerea*, les grappes sont éraflées et les baies, espacées les unes des autres, sont étalées sur des plateaux. Durant 3 à 5 jours, environ 2,5 kg de baies sont exposés à une humidité relative de 30% et à une température de 30°C. Afin d'étudier l'incidence de la lumière sur la formation des composés volatils au cours de la sur-maturation, la moitié des baies est exposée à une luminosité de 50% d'une intensité maximale de 15 000 lux. L'autre moitié est protégée des rayons lumineux par des feuilles d'aluminium tout en assurant une circulation d'air similaire à la modalité non protégée. Les plateaux où reposent les baies sont pesés deux fois par jour pour suivre l'évolution de la perte de poids. Ainsi, les baies sont conservées dans l'étuve jusqu'à une perte de poids total de 30% environ. Les baies flétries sont ensuite pressées manuellement sous azote.

Une fois clarifiée par centrifugation (10 min, 9000 rpm), une fraction du volume de jus récupéré (~200 mL) est soumis à l'analyse sensorielle. La quantification des composés volatils et les dosages des paramètres œnologiques courants sont également effectués (laboratoire SARCO). L'autre fraction de jus est utilisée lors des expériences de nano-vinifications détaillées dans le paragraphe V.

V. Protocoles de nano et micro-vinifications au laboratoire

1. Nano-vinifications au laboratoire des moûts issus de raisins sur-muris artificiellement

a) Préparation des milieux à base de moût naturel

Les essais ont été réalisés avec les moûts élaborés à partir de raisins témoins et sur-muris artificiellement au laboratoire et issus d'un cru de l'appellation Saint-Julien, millésime 2012. Après la sur-maturation artificielle avec ou sans lumière des baies au laboratoire, nous avons six modalités : Merlot Témoin, Merlot Lumière, Merlot Noir, Cabernet-Sauvignon Témoin, Cabernet-Sauvignon Lumière, Cabernet-Sauvignon Noir.

Après le pressurage manuel de chaque lot, le volume de jus est mesuré et les pellicules sont pesées. L'analyse de l'azote assimilable et des sucres réducteurs (Tableau 6) a été effectuée par le Laboratoire SARCO selon les méthodes de dosage enzymatique et de réfractométrie respectivement.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des données des modalités selon les cépages Merlot (M) et Cabernet-Sauvignon (CS) : témoin (Tem), sur-muris à la lumière (L+) ou à l'abri de la lumière (L-)

Cépage	Merlot			Cabernet-Sauvignon		
	M-moût-Tem	M-moût-L+	M-moût-L-	CS-moût-Tem	CS-moût-L+	CS-moût-L-
Poids Baies Fraîches (g)	871,59	1137,46	1174,87	1018,89	1132,08	1102,91
Volume de jus (mL)	600	520	640	645	550	610
Poids Pellicules (g)	326,69	495,64	414,19	315,93	481,7	396,36
Azote Assimilable (mg/LN)	43	59	36	99	125	84
Sucres Réducteurs (g/L)	201	349	341	190	279	279
Ratio jus/pellicules	1,84	1,05	1,55	2,04	1,14	1,54

Pour chaque modalité et pour les deux cépages, les essais de nano-fermentations ont été dupliqués. Ainsi, pour chaque nano-vinification, 150 mL sont prélevés et les pellicules sont ajoutées afin de respecter un ratio jus/pellicule identique à la modalité témoin de Merlot et de Cabernet-Sauvignon. La teneur en sucres réducteurs des moûts issus de raisins sur-muris est ajustée au même niveau que le moût témoin par dilution avec de l'eau milliQ (Merck Millipore, Etats-Unis). Le coefficient de dilution est ensuite pris en compte pour les mesures quantitatives. Enfin, les moûts étant tous carencés voire très fortement carencés en azote assimilable, la concentration est systématiquement ajustée avec du thiazote® (Laffort, France), élaboré à base d'un mélange de sels d'ammonium et thiamine, à une teneur en azote assimilable totale de 180 mg/L.

b) Fermentation alcoolique (FA)

Les moûts et les MS de chaque lot sont conditionnés dans des bouteilles en verre stériles de 300 mL. L'ensemencement est réalisé avec la souche de levure FX10® (20 g/hL, Laffort œnologie) préalablement réhydratée dans un mélange d'eau osmosée et de moût (50/50) à 37°C pendant une demi-heure. La préparation est laissée à température ambiante pendant une heure avant l'inoculation. Les bouteilles sont placées dans une chambre thermostatée à 24°C. Le suivi des cinétiques de fermentation se fait par la mesure quotidienne de la perte de CO₂ à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France). En fin de fermentation alcoolique, le vin obtenu est centrifugé (6000 rpm, 5 min) avant d'être conditionné en flacon ambré à l'abri de l'oxygène à 4°C.

2. Micro-vinifications au laboratoire

Les essais ont été réalisés à partir de raisins issus de l'appellation Pessac-Léognan, du millésime 2012, sur une parcelle de jeunes vignes de Merlot plantées sur un sol de graves comportant de nombreuses grappes flétries en état de sur-maturation exaltant des arômes intenses de figue et de pruneau. Le millésime 2012 a été marqué par un printemps très humide, un été tardif exceptionnellement sec et suffisamment chaud à partir de la mi-août pour arrêter la croissance de la vigne et favoriser la maturation et un automne pluvieux imposant des vendanges rapides (Source : Bulletin du millésime 2012, Geny L. et Dubourdieu D.).

L'expérience visant à mesurer l'incidence de l'incorporation de baies flétries à des raisins murs mais non flétris comprend cinq modalités. Deux répétitions sont effectuées par modalité. La première correspond à la modalité Témoin. La vendange du lot témoin était dépourvue de baies flétries. Les autres modalités correspondent à 5%, 10%, 20% et 60% de baies flétries. Le pourcentage de grappes flétries est évalué par examen visuel (comptage des flétries et des non flétries).

Les raisins ont été éraflés et légèrement pressés manuellement. Les moûts et les pellicules de chaque lot ont été placés dans des cuves en Néoprène de 10 L sous CO₂ et sont sulfités à 30 mg/L. Après 24 h les moûts sontensemencés selon le même protocole que celui détaillé précédemment : la souche de levure FX10[®] (20g/hL, Laffort œnologie) est préalablement réhydratée dans un mélange de moût et d'eau osmosée (50/50) à 37°C pendant une demi-heure et la préparation est laissée à température ambiante pendant une heure avant l'inoculation. Ensuite, les cuves sont placées dans une chambre thermostatée à 24°C. Le suivi des fermentations se fait par la mesure quotidienne de la densité à l'aide d'un densimètre électronique (Anton Paar, France). En fin de fermentation alcoolique, le vin de goutte (obtenu par égouttage, avant que la vendange n'ait été pressée dans le pressoir) est séparé du vin de presse obtenu à l'aide d'un pressoir pneumatique de laboratoire (Bellot, Gradignan, France). Le pressoir pneumatique comporte une membrane gonflée à l'air comprimé, disposée au milieu d'une cage de presse ajourée. Trois pressées successives (0,6, 1 et 1 Bar pendant 1 minute à chaque pressée) ont été réalisées pour l'obtention des vins de presse. Les vins de goutte et les vins de presse sont ensuiteensemencés par un levain malolactique (SIIB P2 Instant, Laffort) à 10 g/hL. Les FML ont lieu dans des bonbonnes en verre à l'abri de l'oxygène et à une température moyenne de 22°C. Après achèvement de la FML, les vins ont été soutirés, puis sulfités (50 mg/L) et embouteillés à l'aide d'une embouteilleuse semi-automatique (Atevi, Vayres, France). Les bouteilles sont conservées en chambre thermostatée à 16°C.

VI. Expériences en champ

1. Millésime 2012

En 2012, une parcelle de Cabernet-Sauvignon, en zone d'appellation Pauillac, au sein du Château Latour, est sélectionnée pour étudier l'influence de la date de récolte sur l'arôme des

raisins et des vins issus de leur vinification. La parcelle de Cabernet-Sauvignon de 1,74 ha a été plantée (densité de plantation : 9900 pieds/ha) pour la plus grande partie en 1966 sur un sol de type peyrosol paléo-rédoxique. Le porte greffe majoritaire est le 101.14. L'orientation des rangs est est-ouest.

La parcelle a été découpée en trois. La première partie a été récoltée à la date optimale fixée par le directeur technique de la propriété (correspondant à l'échantillon D). La deuxième partie a été récoltée 4 jours avant la date optimale (échantillon D-4). La troisième partie a été récoltée 4 jours après la date optimale (échantillon D+4) (Tableau 7).

Tableau 7 : Dates de récolte des raisins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012

Prélèvements	D-4	D	D+4
Cabernet-Sauvignon	8-10	12-10	16-10

Chaque modalité a été vinifiée dans des cuves de 12 hL thermostatées à 20°C et sulfitée à 5g/hL. Après 24h, les cuves sont ensemencées à 11 g/hL par les levures F33 (Laffort, Bordeaux, France) réhydratées selon le protocole fournisseur. Les cinétiques fermentaires de chaque lot sont suivies par la mesure quotidienne de la densité à l'aide d'un densimètre électronique. Des remontages de 10 secondes à l'azote sont réalisés deux fois par jour jusqu'à une densité de 1080 environ. Ensuite des remontages au seau et à l'air (10 seaux par remontage) sont effectués deux fois par jour jusqu'à l'obtention d'une densité 1020-1010. Enfin, des remontages doux de 10 secondes sont ensuite effectués pour finir la FA. Les fermentations malo-lactiques ont été réalisées avec les bactéries indigènes.

2. Millésime 2014

Pour le millésime 2014, les essais date de récolte ont été réalisés sur une parcelle de Merlot et une parcelle de Cabernet-Sauvignon, toutes deux provenant d'un même cru de l'appellation Pauillac, au sein du Château Latour. La parcelle de Merlot de 0,87 ha a été plantée (densité de plantation 10400 pieds/ha) pour la plus grande partie en 2004 sur un sol de type réductisol sableux. Le porte greffe majoritaire est le 101.14. L'orientation des rangs est est-ouest.

La parcelle de Cabernet-Sauvignon est la même que celle des essais réalisés en 2012.

Les différentes dates de récoltes sont répertoriées dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Dates de récolte des raisins de Merlot et Cabernet-Sauvignon du millésime 2014

Prélèvements	D1	D2	D3	D4
Merlot	18-09	24-09	28-09	06-10
Cabernet-Sauvignon	07-10	10-10	12-10	17-10

A chaque date de récolte, 10 kg de raisins environ ont été prélevés de manière aléatoire dans chaque parcelle. Les raisins ont été éraflés et légèrement pressés manuellement. Les moûts et les pellicules de chaque lot ont été placés dans des cuves en inox de 10 L sous CO₂ et ont été sulfités à 30 mg/L. Après 24h les moûts ont été ensemencés selon le même protocole que celui détaillé précédemment : la souche de levure FX10[®] (20 g/hL, Laffort œnologie) est préalablement réhydratée dans un mélange de moût et d'eau osmosée (50/50) à 37°C pendant une demi-heure et la préparation est laissée à température ambiante pendant une heure avant l'inoculation. Ensuite, les cuves sont placées dans une chambre thermostatée à 24°C. Le suivi des fermentations se fait par la mesure quotidienne de la densité à l'aide d'un densimètre électronique (Anton Paar, France). En fin de fermentation alcoolique, le vin de goutte (obtenu par égouttage, avant que la vendange n'ait été pressée dans le pressoir) est séparé du vin de presse obtenu à l'aide d'un pressoir pneumatique de laboratoire (Bellot, Gradignan, France). Le pressoir pneumatique comporte une membrane gonflée à l'air comprimé disposée au milieu d'une cage de presse ajourée. Trois pressées successives (0,6, 1 et 1 Bar pendant 1 minute à chaque pressée) ont été réalisées pour l'obtention des vins de presse. Les vins de goutte et les vins de presse sont ensuite ensemencés par un levain malolactique (SIIB P2 Instant, Laffort) à 10 g/hL. Les FML ont lieu dans des bonbonnes en verre à l'abri de l'oxygène et à une température moyenne de 22°C. Après achèvement de la FML, les vins ont été soutirés, puis sulfités (50 mg/L) et embouteillés à l'aide d'une embouteilleuse semi-automatique (Atevi, Vayres, France).

VII. Analyses sensorielles

1. Conditions expérimentales et paramètres généraux

Les analyses sensorielles ont été réalisées dans la salle de dégustation de l'Unité de recherche Œnologie (comprenant 10 postes de dégustation) ainsi que dans la grande salle de dégustation (comprenant 75 postes) utilisée à des fins pédagogiques pour les étudiants en œnologie de l'ISVV. Les installations sont conçues de façon à limiter les facteurs externes pouvant perturber l'analyse sensorielle et correspondent à la norme NF EN ISO 8589:2010 relative à ce type d'équipement (isolation phonique, température constante et régulée, etc.). Les postes, bien individualisés, garantissent une dégustation isolée et indépendante, sans possibilité de concertation. Au cours des séances d'analyse sensorielle, les dégustateurs ne disposent d'aucun matériel d'assistance informatique, seules les feuilles de dégustations ont été systématiquement fournies.

De plus, toutes les dégustations ont été faites dans des verres opaques (noirs) ou transparents de type INAO correspondants à la norme ISO 3591 : 1977 (AFNOR, 2007). Chaque verre est systématiquement codé par un nombre à trois chiffres.

2. Epreuves discriminatives

a) Détermination des seuils de perception

Le seuil de perception est utilisé pour caractériser l'impact olfactif d'un composé volatil ; c'est la concentration minimale, à partir de laquelle, au cours d'un test triangulaire, 50% des dégustateurs reconnaissent la présence d'une substance odorante, sans pour autant être forcément capables d'identifier l'odeur (Boidron *et al.*, 1988).

Les seuils de perception ont été déterminés par une série de tests de difficulté décroissante et impliquant un choix forcé à chaque niveau. Il s'agit de la méthode ascendante et de la procédure d'essais 3-AFC (3 Alternatives à Choix Forcé, NF ISO 13301 : 2002). A chaque concentration, trois solutions de 50mL sont présentées au panel ; une solution contient le composé à détecter, appelée échantillon « positif », les deux autres ne contiennent que la matrice, ce sont les témoins. A chaque seuil, 8 niveaux de concentrations croissantes sont présentés. Le Tableau 9

présente la composition de tous les seuils de perception réalisés dans différentes matrices sur plusieurs composés volatils. La fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe 1.

Tableau 9 : Composition des échantillons présentés pour la détermination des seuils de perception

Composés	Matrice	Concentrations	Panel
(Z)-1,5-octadien-3-one	MS ¹	0,18/0,36/0,72/1,44/2,88/5,76/11,52/23,04 (pg/L)	21
	VS ²	0,0009/0,0036/0,0144/0,0576/0,2304/0,9216/3,6864/14,7456 (ng/L)	21
	Moût naturel	0,128/0,256/0,516/1,024/2,048/4,096/8,192/16,384 (ng/L)	21
Furanéol	MS ¹	1/2/4/8/16/32/64/128 (µg/L)	18
	VS ²	25/30/36/43,2/51,8/62,2/74,7/89,6 (µg/L)	18
	VS ³	25/30/36/43,2/51,8/62,2/74,7/89,6 (µg/L)	18
	VS ⁴	25/30/36/43,2/51,8/62,2/74,7/89,6 (µg/L)	18
Homofuranéol	MS ¹	0,5/1/2/4/8/16/32/64 (µg/L)	18
	VS ²	0,5/1/2/4/8/16/32/64 (µg/L)	18
	VS ³	0,5/1/2/4/8/16/32/64 (µg/L)	18
γ-nonalactone	VS ²	4/8/16/32/64/128/256/512 (µg/L)	20
100%R	VS ²	4/8/16/32/64/128/256/512 (µg/L)	20
100%S	VS ²	4/8/16/32/64/128/256/512 (µg/L)	20
70%R/30%S	VS ²	4/8/16/32/64/128/256/512 (µg/L)	20
30%R/70%S	VS ²	4/8/16/32/64/128/256/512 (µg/L)	20

1 : MS : milieu synthétique de moût : 200g/L fructose/glucose, 5g/L acide tartrique, ajusté pH 3,5 (NaOH 5M)

2 : VS : vin synthétique : 12% vol. éthanol bidistillé, 5g/L acide tartrique, ajustée pH 3,5 (NaOH 5M)

3 : VS : vin synthétique : 12% vol. éthanol bidistillé, 5g/L acide tartrique, ajustée pH 4 (NaOH 5M)

4 : VS : vin synthétique : 12% vol. éthanol bidistillé, 5g/L acide tartrique, ajustée pH 3,5 (NaOH 5M), supplémenté par 10µg/L d'homofuranéol

Les seuils sont déterminés par la courbe de fréquence des bonnes réponses en fonction de la concentration limite perçue par 50% des dégustateurs (Boidron *et al.*, 1988). Selon Harper (1982), cette valeur fournit la meilleure estimation.

b) Tests triangulaires

Pour chaque test triangulaire, trois échantillons de 50mL ont été présentés au panel de manière codée (NF EN ISO 4120 : 2007). Deux échantillons étaient identiques, le troisième était différent. Chaque juge devait cocher sur la fiche de dégustation l'échantillon qu'il percevait comme différent des deux autres et devait donner une réponse même s'il n'en était pas certain. La composition et l'ordre de présentation des échantillons de chaque triade étaient équilibrés sur le panel. Six combinaisons étaient possibles suivant la nature du produit répété (A ou B) et la position de l'échantillon unique : AAB, ABA, BAA (poste 1), BBA, BAB, ABB (poste 2) (Martin et De Revel, 1999). La fiche de dégustation type présentée aux dégustateurs est fournie en annexe 2.

Les tests triangulaires ont été réalisés sur certains échantillons étudiant l'effet de l'ajout de quantités croissantes de baies flétries dans la vendange sur l'arôme des vins. Le panel était composé de 21 dégustateurs.

L'interprétation statistique des résultats des tests triangulaires repose sur un test d'hypothèse (Martin et De Revel, 1999). L'hypothèse choisie a priori postule l'identité entre deux produits (hypothèse nulle notée $H_0 : A = B$, probabilité de réponses justes au hasard $p_0=1/3$). L'utilisation de la loi Binomiale (à laquelle répond la distribution des réponses observées pour ce type de test) permet de déterminer la probabilité d'obtenir le résultat de l'expérience (nombre k de réponses justes sur le nombre n de réponses totales) sous cette hypothèse nulle. Plus cette probabilité est faible (proche de 0), moins on a de chances de vérifier l'hypothèse d'identité des produits. Les valeurs limites de probabilité généralement adoptées sont 5%, 1%, 0,1% (correspondants à des seuils de confiance de 95, 99 et 99,9%). Lorsque la probabilité calculée est inférieure à ces valeurs, on rejette l'hypothèse en concluant à une différence significative entre les produits aux risques de 5, 1 ou 0,1%. Les réponses des tables répondant à la loi binomiale sont disponibles dans la littérature, comme celle présentée dans l'annexe 3.

3. Epreuves descriptives

a) Détermination de profils sensoriels

Des profils sensoriels ont été établis pour les moûts et les vins. Chaque descripteur est évalué et positionné en fonction de son intensité sur une échelle de notation structurée de 0 à 10 (0 correspondant à aucune odeur perçue et 10 indique que l'intensité est très élevée). Les trois descripteurs sélectionnés étaient « Végétal », « Fruits frais » et « Fruits cuits ». La fiche de dégustation type présentée au panel est fournie en annexe 4. Les verres utilisés étaient noirs et contenaient systématiquement 50 mL d'échantillon.

Afin d'évaluer statistiquement les modifications sensorielles dans chaque expérimentation, des analyses de la variance à un facteur sur les données centrées-réduites ont été réalisées pour chaque descripteur. Les conditions d'application de l'ANOVA ont été vérifiées sous le logiciel R (R Foundation for Statistical Computing, Angleterre) : homogénéité des variances (Test de Levene) et normalité des résidus (Test de Shapiro-Wilk). Si ces conditions n'étaient pas réunies, un test statistique bilatéral, non paramétrique, de Kruskal-Wallis était appliqué (des comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Steem-Dwass-Critchlow-Flogner). Le risque α est fixé dans les analyses à 5%. Ensuite, des Analyses en Composantes Principales et des tableaux de corrélation de Spearman ont été réalisées à l'aide du logiciel R et XLSTAT (Addinsolft, France).

b) Evaluation de l'intensité des odeurs de « fruits cuits » dans les vins

Une dégustation a été organisée autour de 16 vins de millésimes variés issus de différentes appellations du Bordelais mais aussi d'Italie, de Californie et d'Australie. Parmi ces 16 vins, on compte 11 vins qui présentaient des nuances de « fruits cuits » ; ils sont donc notés avec le code « V-FC » pour Vin Fruits Cuits. 5 vins témoins évoquant plutôt des nuances de fruits frais ou encore végétales sont notés avec le code « V-T » pour Vin Témoin. Cette dégustation a été réalisée par un panel de 16 dégustateurs confirmés (chercheurs et œnologues de l'ISVV) qui ont l'habitude de déguster et familiarisés avec les vins présentant des odeurs caractéristiques de fruits cuits. Les échantillons ont été présentés au panel sur deux postes comportant chacun une série de 8 vins. Les sens de présentation variaient pour chaque dégustateur à chaque poste.

Pour chaque vin, les juges devaient évaluer l'intensité des caractères « fruits cuits », « boisé » et « oxydé » sur une échelle non structurée de 0 à 100 mm, portant la mention « peu intense » sur la gauche, et « très intense » sur la droite (Martin et De Revel, 1999). La fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe 5.

Pour l'analyse statistique, la distance entre la borne de gauche et le trait a été mesurée et convertie en une note comprise entre 0 et 10. Les données ont été converties en données centrée-réduites et les analyses en composantes principales corrélant les composés volatils et l'intensité des descripteurs perçus à la dégustation ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT (Addinsolft, France).

PARTIE 3

CARACTERISATION DES ZONES ODORANTES ASSOCIEES A L'AROME DE FRUIT CUIT DES MOÛTS ET DES VINS

CHAPITRE 1

ETUDE DE LA CONTRIBUTION DES NUANCES FRUITS CUIITS A LA TYPICITE AROMATIQUE DES VINS D'UNE APPELLATION BORDELAISE

Une des premières caractéristiques des grands vins rouges de Bordeaux, réside dans la complexité aromatique dont les dégustateurs avertis reconnaissent les différentes nuances, herbacées à fruitées, évoquant le poivron vert, le cassis, la mûre, ou encore la figue et le pruneau. L'expression aromatique de ces vins est intimement liée à l'état de maturité des raisins. L'élevage en fût de chêne, lorsqu'il est bien conduit, affine et complète cette palette aromatique par des odeurs de noix de coco, de torréfaction, et d'épices.

En préambule du travail analytique de caractérisation des déterminants moléculaires des nuances de fruits cuits des moûts et des vins rouges, nous nous sommes intéressés à la présence de ces nuances, ainsi qu'à leur perception en lien avec la notion de typicité propre à l'ensemble des vins d'une même appellation que nous nommerons appellation A. En effet, les nuances de fruits cuits occupent une place particulière et ambivalente dans le champ lexical du dégustateur puisqu'elles décrivent à la fois l'arôme du vin jeune et celui de vins prématurément vieillis conservés en bouteilles. Les questions posées sont les suivantes : existe-t-il une typicité aromatique propre aux vins de cette appellation ? Est-ce que des vins jeunes marqués par des nuances de fruits cuits sont considérés comme de bons exemples des vins de cette appellation ? Dans ce contexte, l'odeur de pruneau et de figue des vins rouges prématurément vieillis peut-elle également être associée à cette typicité ?

I. Etude bibliographique – Notion de typicité

1. Définition de la typicité

Nombreuses sont les définitions du terme « *typicité* » retrouvées dans la littérature. Cette notion, relativement récente, est apparue en 1993 dans le Nouveau Petit Robert et se définit comme suit : « *ce mot vient de typique. En œnologie, il représente l'ensemble des caractéristiques d'un vin, résultant du cépage, de la terre, des techniques de vinification, etc.* ». Selon Salette (1997), la notion de « *typicité* » a été employée dès 1979 pour mieux caractériser et comparer d'un point de vue sensoriel les vins issus de différents terroirs. Il définit la typicité comme « *la forme idéale qui réunit au plus haut degré, les propriétés, les traits, les caractères essentiels (...) d'une catégorie* ».

Comme le soulignait Cadot (2010), le fait que ce terme soit récemment utilisé, et qu'il s'applique au vin dont l'origine remonte à plusieurs millénaires, laisse penser qu'il est l'expression d'un besoin récent soit des producteurs pour une meilleure différenciation de leurs vins, soit du consommateur pour la recherche de propriétés olfactives et gustatives. Aujourd'hui, cette notion de typicité, bien qu'elle soit ancrée à un usage œnologique, s'est immiscée dans le langage courant et trouve son usage dans de nombreux autres domaines extérieurs à l'œnologie, comme par exemple des études sur le fromage (Dacremont *et al.*, 1994).

Dans la littérature scientifique, on peut noter, selon les auteurs, quelques nuances dans la façon d'aborder la définition de la typicité bien qu'elles restent complémentaires. Par exemple, la définition de Sauvageot (1994) introduit dans la typicité la notion de spécificité, de singularité ou d'originalité, tandis que celle de Salette (1997) met l'accent sur le fait que le type constitue le modèle idéal d'une catégorie. Plus récemment, Casabianca *et al.* (2005) associent des savoirs et des compétences de la « typicité » en insistant sur le rôle central du consommateur et la nécessité de familiarisation voire d'apprentissage de cette typicité. Enfin, selon Dubourdiou (2007), un vin dit « typique » doit présenter des attributs organoleptiques propres aux plus grands vins : « *originaux, reconnaissables par l'amateur et le producteur, associés à un terroir et difficilement copiables, reflétant une image contemporaine et apte à la conservation* ». Ainsi, nous pouvons dégager de ces définitions complémentaires deux notions principales qui s'avèrent importantes dans le jugement de l'appartenance d'un vin à un type : la notion d'exemple représentatif, appelé « modèle idéal » et la notion de spécificité, d'originalité. Ces deux notions se retrouvent d'ailleurs dans l'étude menée par Giraud (2005) qui définit le concept de typicité à la fois comme un élément distinctif relié au terroir (notion de typicité) et représentatif de sa catégorie (notion de typicalité).

En psychologie cognitive, la formulation est différente ; la typicité correspond à la reconnaissance d'un objet comme étant représentatif de sa catégorie. Pour une catégorie donnée, les exemples typiques ou représentatifs sont « *ceux dont le nombre d'attributs dominants de la catégorie est le plus élevé, considérant que ces attributs déterminent la spécificité de cette même catégorie quand elle est comparée à d'autres catégories* » (Ballester, 2004). Ainsi la typicité, lorsqu'elle est détournée de son sens œnologique premier, peut très bien refléter un état qualitatif différent voire moindre. Certains défauts, lorsqu'ils sont standardisés, peuvent très bien faire la typicité de ces vins. Dans le bordelais, on pense bien

évidemment aux odeurs d'écuries retrouvées dans de très nombreux vins du Médoc entre le milieu des années 1980 et jusqu'à un passé récent. Ces odeurs furent considérées pendant très longtemps comme une expression du terroir correspondant à un type propre au Médoc jusqu'à ce que la recherche œnologique montre clairement que ces odeurs provenaient du développement d'une levure de contamination *Brettanomyces bruxellensis*. Ainsi, ce qui faisait le type de ces vins trouvait son origine dans une mauvaise hygiène du matériel vinaire et des pratiques œnologiques mal adaptées.

Le vin est un produit au cœur du concept de la typicité, de par le système de production et de commercialisation sur lequel il repose : l'Appellation d'Origine Contrôlée (AOC). L'AOC fut créée en 1935 et repose sur la production à partir de règles communes ; le consensus autour de ces règles est la base de toute action (Traversac *et al.*, 2005). La notion de typicité fut introduite en 2001 dans la réglementation des AOC. L'objectif était de désigner un produit tirant son authenticité, sa qualité et ses caractéristiques de son origine géographique ainsi que de méthodes de production particulières. L'AOC garantit non seulement l'origine, mais aussi l'expression d'un lien fort entre le produit et le terroir.

Placé dans un contexte d'AOC, la notion de typicité exprime toute sa complexité. En effet, certaines AOC, comme par exemple les Graves, de par leur superficie et la nature du sol sont considérées comme plutôt homogènes (Fanet, 2008). A l'inverse, d'autres appellations comme Saint-Emilion présentent une diversité pédo-climatique et agronomique très importante (Van Leeuwen, 2010). La typicité, étant liée à la notion de terroir, a suscité beaucoup d'intérêt et de discussions auprès de la communauté scientifique. Ainsi, il n'est pas étonnant de constater que les AOC ont des difficultés à assumer cette diversité tout en conservant une unité au sein de la production dans la zone d'appellation (Botois, 2007).

2. Exemples de travaux sur la typicité des vins

La complexité aromatique des vins perçue à la dégustation et modulée selon la nature des cépages, du terroir et des conditions de leur élaboration, fait l'objet de nombreux travaux en lien avec la notion de typicité. Cette notion rassemble des vins identifiables, comme on reconnaît les membres d'une même famille, proches mais différents.

Il existe un très grand nombre d'études traitant de la caractérisation sensorielle et/ou physico-chimique d'une catégorie d'aliments. La plupart de ces travaux s'appuient sur l'hypothèse selon laquelle « *la catégorie d'aliments étudiée est associée à un espace sensoriel propre au sein duquel les produits partagent des caractéristiques sensorielles qui permettent de les regrouper au sein de cette catégorie en question* » (Ballester, 2004).

De nombreuses études basées sur des approches descriptives des vins de « catégorie spécifique » ont pour but de caractériser analytiquement et sensoriellement les vins d'une ou plusieurs catégories sans chercher à définir voire à expliquer ce qui fait la « typicité » ou non d'un vin. Cette catégorie peut être une appellation. Par exemple, les travaux d'Augris (1994) se focalisant uniquement sur les vins de l'appellation Morgon, ne permettent pas de savoir si ces vins sont sensoriellement différents de ceux d'autres appellations puisque seuls les vins de cette appellation ont été étudiés.

D'autres études se sont intéressées à la recherche d'une typicité en lien avec une origine géographique. Les travaux de Vilanova *et al.*, (2005) ont appliqué cette démarche à cinq aires de Ribera Sacra en Galice (Espagne). Goldner *et al.*, (2007) se sont intéressés à cette notion pour cinq régions d'Argentine. Au final, bien qu'appartenant à une catégorie en question (la position géographique), les échantillons étudiés ne présentent aucune garantie d'être sensoriellement typiques de leur catégorie.

L'étude de l'incidence de la nature du cépage sur la perception d'une typicité propre aux vins a suscité beaucoup de travaux : Simpson et Miller (1984) ont étudié le Chardonnay, Paloc *et al.* (1993) le Muscat petits grains et le Muscat d'Alexandrie, et Aleixandre *et al.* (2003) des cépages des vins rouges espagnols comme le Cabernet-Sauvignon, le Tempranillo, le Monastrell et le Bobal. Aussi, les travaux de Moio *et al.* (1993) portant sur l'analyse des vins de Chardonnay issus des appellations régionales, communales, premier cru et grand cru de Bourgogne ont pu montrer que sept vins issus de toutes les appellations sur 23 étaient jugés comme n'étant pas typiques de ce cépage. Ces vins non typiques provenaient indifféremment de l'ensemble des appellations.

Plus récemment, Ballester *et al.* (2005) a précisé ces observations en mettant en évidence que pour un cépage donné, il existait un gradient de typicité aromatique. Certains vins de Chardonnay évalués par des experts connaissant particulièrement l'expression aromatique de

ce cépage n'étaient pas typiques de la catégorie Chardonnay tandis que des vins issus d'autres cépages se révélaient être typiques de cette catégorie.

Des travaux sur les vins rouges de Bordeaux (Pineau, 2007) ont permis de montrer l'existence d'un espace sensoriel propre aux vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon de Bordeaux dont l'odeur évoque des odeurs fruitées de type fruits rouges/fruits noirs. Cette étude a été menée sur toutes les appellations de la région bordelaise en sélectionnant 21 vins (4 blancs et 17 rouges dont 9 originaires de Bordeaux) aux nuances fruitées marquées. Selon cet auteur, ces résultats soulignent également que la typicité relève davantage d'un continuum que d'une catégorisation stricte. En effet, il apparaît que chaque catégorie comporte une certaine diversité interne. Les frontières entre catégories ne sont donc pas nécessairement bien fixées, du fait qu'il existe des différences entre des vins d'une même catégorie tout comme des ressemblances entre des vins issus de catégories distinctes.

Enfin, des études se sont attachées à valider analytiquement l'existence d'une typicité aromatique par l'identification de marqueurs olfactifs pertinents. Par exemple, les travaux de Sarrazin (2007) sur les vins liquoreux de pourriture noble du Bordelais ont pu mettre en évidence l'existence d'une corrélation entre des teneurs élevées en différentes lactones (γ -nonalactone, massoia lactone et whisky lactone) et de certains aldéhydes (méthional et phénylacétaldéhyde) avec une plus grande typicité aromatique de ces vins. Plus récemment, les travaux de Schüttler (2012), ont mis en évidence l'existence d'une corrélation entre le degré de typicité aromatique des vins de Riesling et la concentration en composés aromatiques tels que le 3-sulfanylhéxan-3-ol, mais aussi une anti-corrélation entre la typicité de ces vins et la teneur en linalol et en 1,1,6-triméthyl-dihydronaphtalène (TDN).

Pour conclure, la notion d'espace sensoriel revient donc à définir l'existence d'un ensemble de produits regroupés par des caractéristiques sensorielles et des attributs qui permettent de les reconnaître comme appartenant à un ensemble spécifique (Ballester, 2004). L'existence de cet espace sensoriel propre permet ensuite la caractérisation, par des approches sensorielles et instrumentales, de la catégorie définie (Ballester *et al.*, 2005).

II. Etude de la typicité d'une appellation bordelaise (A)

La recherche d'un espace sensoriel propre à une appellation de la région bordelaise s'inspire des travaux de Ballester (2004) portant sur l'étude de la typicité aromatique des vins de Chardonnay. Elle repose sur l'hypothèse suivante : « *la catégorie d'aliments étudiée est associée à un espace sensoriel propre au sein duquel les produits partagent des caractéristiques sensorielles qui permettent de les regrouper au sein de cette catégorie en question* ». Pour ce faire, nous avons tout d'abord sélectionné des vins rouges, appartenant ou non à l'appellation A, que nous avons soumis à un panel d'experts.

L'appellation sélectionnée figure parmi les grandes appellations de la région de Bordeaux. Grande par la notoriété mais également par la taille ; sa superficie lui permet de concentrer en son sein, une kyrielle de sous-sols de nature sablonneux, argileux et même calcaires donnant la possibilité à l'œnologue de produire des vins présentant des palettes aromatiques diverses.

La recherche de l'existence d'un espace sensoriel propre d'une appellation de la région bordelaise a nécessité la mise en place d'un protocole d'analyse sensorielle particulier détaillé ci-après. Cette analyse sensorielle a été réalisée en 2013.

1. Choix des vins

La répartition des produits au sein d'un espace sensoriel obéit à un gradient de représentativité (Rosch et Mervis, 1975). L'étude du niveau de typicité de vins d'un même espace produit, repose sur la considération d'un échantillonnage suffisamment important pour s'assurer de la présence de bons, comme de mauvais exemples.

Dans un premier temps, 40 vins de cette appellation ont été dégustés par un jury d'experts (tous membres permanents ou temporaires de l'ISVV), dans le but d'établir une sélection représentative de la diversité des nuances aromatiques des vins de cette appellation. Les vins présentant des déviations organoleptiques rédhibitoires tel que le goût de bouchon, la présence de phénols volatils ou d'autres odeurs exogènes ont été écartés.

Au final, 19 vins rouges (appellation A) ont été retenus (Tableau 10). La plupart des vins ont été achetés ; les autres ont été gracieusement fournis par les propriétaires qui ont d'ailleurs été

conviés à l'analyse sensorielle. Ces vins sont tous élaborés à partir d'une majorité de Merlot et de Cabernet-Sauvignon pour les millésimes 2009 et 2010. Le choix de ces millésimes a été guidé d'une part par leur jeunesse au regard de la dégustation qui s'est tenue en 2013, et surtout pour l'homogénéité et la qualité globale de la production (lettre du millésime 2009 - Gény *et al.*, 2009 ; lettre du millésime 2010 - Gény *et al.*, 2010).

Les vins achetés par nos soins en 2013 ont été conservés dans une salle dont la température est régulée (17°C). Les vins fournis par les propriétaires ont été conservés en conditions similaires dans leur chai de stockage. Les vins ont tous été bouchés par un obturateur liège naturel première catégorie, provenant de fournisseurs différents, propres à chaque producteur.

Afin de prouver l'existence de caractéristiques sensorielles qui distinguent les vins de l'appellation A des autres vins, nous avons également inséré dans l'échantillonnage des vins appartenant à des espaces produits voisins voire éloignés (Ballester, 2004 ; Dacremont et Vickers, 1994). Ainsi, nous avons sélectionnés 11 vins provenant soit d'appellations limitrophes à l'appellation A (HA-L), soit d'une autre appellation du Bordelais (HA-BX), soit d'une autre appellation localisée en Languedoc-Roussillon (France) (HA-FR). Pour compléter cet échantillonnage, un vin rouge provenant de Californie a également été introduit dans cette sélection (HA-C).

Les vins sélectionnés se doivent également d'être le plus représentatif, pour une qualité donnée, de la diversité de l'appellation A. La qualité des vins hors appellation (HA) doit être proche ou éloignée de celle des vins de l'appellation A. Aussi, le critère de sélection le plus objectif que nous avons choisi d'adopter, en lien avec la qualité intrinsèque du produit, repose sur le prix de vente. L'analyse du Tableau 11 nous révèle que de grands écarts existent entre les vins et entre les catégories. Toutefois, le prix médian des deux catégories reste proche.

Enfin, parmi ces vins, nous avons également introduit un vin « atypique » (A19) provenant de l'appellation A (du millésime 2003) et présentant tous les attributs olfactifs symptomatiques du vin rouge évolué et oxydé : arômes de fruits cuits, noyaux de pruneau, cerise à l'eau de vie.

L'ensemble des vins sélectionnés pour la dégustation est présenté dans le Tableau 10. Tous les vins ont été élevés en fûts de chêne à l'exception des vins HA-FR et HA-BX2.

Tableau 10 : Code vin, origine, cépage et millésime des 30 vins présentés au jury

Codes	Origine	Cépages				Année	Prix (€)
		M	CS	CF	PV		
A1	Appellation A, Bordeaux	80%	20%	-	-	2010	31
A2	Appellation A, Bordeaux	75%	15%	10%	-	2009	39
A3	Appellation A, Bordeaux	75%	15%	10%	-	2010	33
A4	Appellation A, Bordeaux	75%	20%	5%	-	2010	38
A5	Appellation A, Bordeaux	80%	20%	-	-	2010	8,8
A6	Appellation A, Bordeaux	80%	18%	2%	-	2009	78
A7	Appellation A, Bordeaux	80%	18%	2%	-	2010	99
A8	Appellation A, Bordeaux	80%	-	20%	-	2010	8,3
A9	Appellation A, Bordeaux	80%	-	20%	-	2010	32
A10	Appellation A, Bordeaux	65%	30%	5%	-	2010	25
A11	Appellation A, Bordeaux	85%	10%	5%	-	2010	33
A12	Appellation A, Bordeaux	65%	25%	10%	-	2009	24
A13	Appellation A, Bordeaux	65%	25%	10%	-	2010	18
A14	Appellation A, Bordeaux	50%	3%	47%	-	2010	14,2
A15	Appellation A, Bordeaux	65%	30%	5%	-	2010	13,3
A16	Appellation A, Bordeaux	75%	20%	5%	-	2010	11
A17	Appellation A, Bordeaux	85%	15%	-	-	2010	24
A18	Appellation A, Bordeaux	85%	15%	-	-	2010	12,2
A19	Appellation A, Bordeaux	90%	-	10%	-	2003	60
HA-L1	Hors appellation limitrophe de A	70%	25%	5%	-	2010	8,69
HA-L2	Hors appellation limitrophe de A	90%	10%	-	-	2010	84
HA-L3	Hors appellation limitrophe de A	80%	20%	-	-	2010	56
HA-FR	Hors appellation, France	100%	-	-	-	2010	4
HA-BX1	Hors appellation, Bordeaux	30%	65%	5%	-	2010	19
HA-BX2	Hors appellation, Bordeaux	20%	20%	-	-	2010	4
HA-BX3	Hors appellation, Bordeaux	25%	75%	-	-	2010	165
HA-BX4	Hors appellation, Bordeaux	30%	64%	3%	3%	2010	20
HA-BX5	Hors appellation, Bordeaux	45%	55%	-	-	2010	27
HA-BX6	Hors appellation, Bordeaux	25%	75%	-	-	2010	27,3
HA-C	Hors appellation, Californie	-	100%	-	-	2010	35

* M : Merlot – CS : Cabernet-Sauvignon – CF : Cabernet Franc – PV : Petit Verdot

Tableau 11 : Prix de vente HT ^(a) (euros) des vins hors appellation (HA) et de l'appellation (A)

	Prix moyen	Prix median	Prix minimal	Prix maximal
HA	42,8	23,5	4	165
A	31,7	28	8,3	99

(a) : Sources : producteurs, winedecider.com

2. Recrutement du panel de dégustateur

Le panel de dégustateur comportait 25 sujets et était constitué de professionnels du vin provenant à la fois de la production et également de la commercialisation des vins. Ainsi, ces dégustations ont réuni des chercheurs en œnologie, des œnologues conseils, des maîtres de chai ainsi que des propriétaires en même temps que des négociants et des cavistes. Certains d'entre eux exerçaient leur activité au sein de l'appellation A, les autres dans des appellations de la région de Bordeaux. L'ensemble de ces personnes a été choisi en raison de leur grande expérience à la dégustation des vins rouges de Bordeaux.

Lors du recrutement, nous avons également prêté attention à ce que la majeure partie des experts ne se connaissaient pas ou n'avaient pas eu l'occasion de déguster régulièrement ensemble avant cette dégustation.

3. Déroulement de l'analyse sensorielle

L'analyse sensorielle s'est déroulée dans une salle répondant aux normes AFNOR. Elle était divisée en deux et les dégustateurs s'installaient aléatoirement d'un côté ou de l'autre de la salle.

Au cours de chaque séance, les 30 vins étaient présentés au jury en 5 séries de 6 vins ; 4 séries comportaient 1 vin HA et 5 vin A, et 1 série comportait 2 vin HA et 4 vins A. Les deux groupes ne dégustaient pas les séries dans le même ordre et au sein de chaque groupe, les dégustateurs ne dégustaient pas les vins dans le même ordre. Les vins étaient servis à température ambiante (19°C, température de la salle climatisée) dans des verres transparents standardisés. Les échantillons étaient servis de façon monadique dans un ordre de présentation équilibré en tenant compte des effets d'ordre (MacFie *et al.*, 1989). Au final, chaque sujet disposait donc d'un ordre de présentation des vins qui lui était spécifique.

Avant la séance, les bouteilles étaient débouchées et dégustées afin de s'assurer de l'absence de tout défaut de nature exogène (« gout de bouchon »...). Des caches étaient ensuite mis sur les bouteilles pour la dégustation à l'aveugle et sur chaque cache, un nombre aléatoire à trois chiffres était apposé pour reconnaître chaque échantillon.

Les échantillons étaient évalués selon plusieurs critères. Il était demandé aux sujets d'évaluer les vins par voie orthonasale. Chaque séance était organisée de la façon suivante : chacune des 5 séries de 6 vins était dégustées dans les deux groupes et une pause de 5 minutes était réalisée entre chaque série.

Chaque poste de la salle de dégustation comportait :

- 6 verres transparents
- 5 feuilles empilées comportant des dessins de dessous de verre numérotés pour chaque verre de chaque série (Annexe 6). Chaque dégustateur pouvait alors se servir de vin en fonction du numéro correspondant.
- Une serviette
- Un livret de feuille de réponse correspondant à une série de 6 vins (Annexe 7). A la fin de chaque série dégustée, le livret était ramassé et un nouveau livret correspondant à la série suivante était distribué.

Un tel dispositif a nécessité la participation de trois personnes pour le service et l'animation des séances.

La question présentée aux sujets (inspirée des travaux de Ballester, 2004) était la suivante :

« Imaginez que vous deviez expliquer à un ami ce qu'est un vin typique de l'appellation A. Pour lui expliquer, vous avez la possibilité de lui faire déguster un vin. Pour chaque vin qui vous sera présenté, nous vous demandons de répondre à la question suivante : considérez vous que ce vin est un bon ou un mauvais exemple pour expliquer à votre ami ce qu'est un vin typique de l'appellation A ?

*Dans les échantillons qui vous seront présentés, il y a des vins issus de l'appellation A et d'autres n'en faisant pas partie. Pour des raisons diverses liées aux pratiques culturelles ou œnologiques, il n'est pas exclu qu'un vin issu de la région de A ne vous semble pas être un bon exemple de typicité et au contraire, qu'un vin venant d'une autre région puisse vous sembler en être un. Nous nous intéressons à **votre opinion personnelle**.*

La deuxième partie de l'évaluation consiste à déterminer pour ces mêmes échantillons les intensités des descripteurs « fruits frais », « fruits cuits », « végétal » et « boisé ».

Les sujets devaient répondre sur le livret comportant des échelles non structurées de 0 à 100mm correspondant à « très mauvais exemple » (à gauche) et « très bon exemple » (à droite) pour la typicité, « peu intense » (à gauche) et « très intense » (à droite) pour le « fruits frais », « fruits cuits », « végétal » et « boisé ».

Ensuite, la distance entre la borne gauche et le trait indiqué par le sujet était convertie en une note comprise entre 0 et 10.

4. Résultats

L'ensemble des résultats comprenant les analyses sensorielles ainsi que les analyses quantitatives ont été traitées par des analyses en composantes principales (ACP) grâce aux logiciels R et XLSTAT.

Cette étude a nécessité de faire appel à un panel d'experts des vins de Bordeaux, capable de sélectionner les vins en fonction de leur niveau de typicité, même si ce terme de typicité n'était pas explicitement formulé. En effet, la question demandée attirait plutôt l'attention sur le caractère de bon exemple de l'appellation A de chacun des 30 vins proposés.

III. Recherche de l'existence d'un consensus entre les experts pour exprimer l'existence d'une typicité des vins de l'appellation A

1. Etude de la variabilité du système de notation des dégustateurs

Les différentes notes de typicité attribuées par les sujets aux différents vins lors de l'analyse sensorielle montrent de nettes différences dans l'utilisation des échelles de notation. La Figure 13 présente les médianes, les écarts interquartiles et les étendues des notes attribuées par chacun des juges.

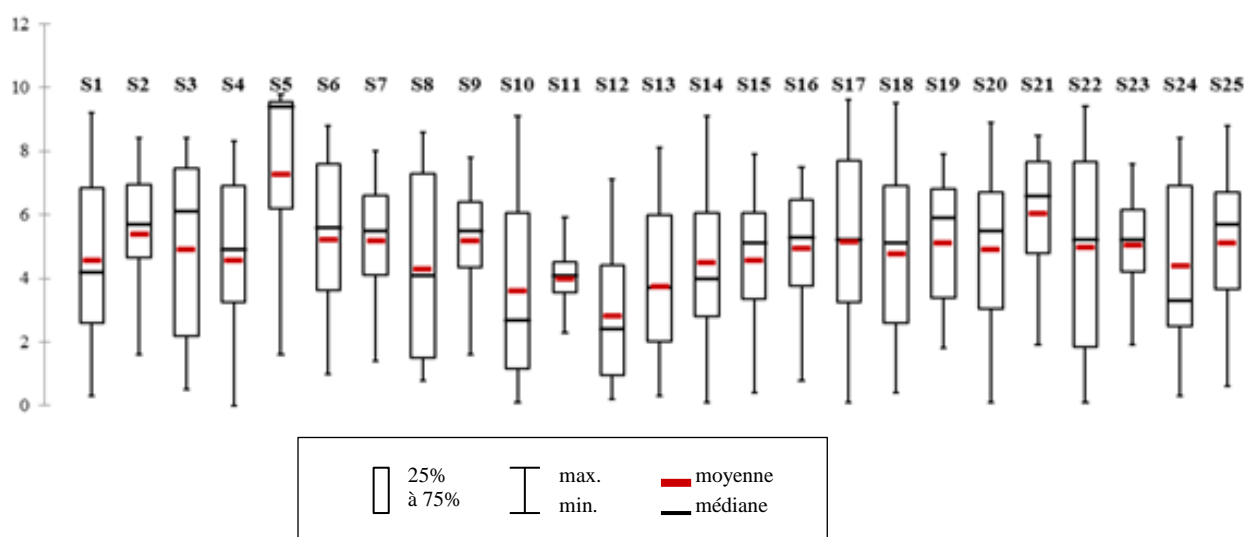


Figure 13 : Médianes, écarts interquartiles et étendue des notes de typicité attribuées par les sujets (S) pour les vins dégustés en 2013

Cette figure montre clairement que les sujets n'utilisent pas la même échelle de notation. Si les sujets 1, 3 et 10 utilisent la totalité de l'échelle de notation ; à l'inverse, le sujet 11 n'a pas mis de note supérieure à 6. Le jugement du sujet 11 est alors décalé vers l'extrémité de l'échelle de notation relative aux mauvais exemples de la typicité.

La répartition des vins sur l'échelle de notation traduit un effet juge qui nécessite de vérifier l'existence d'un consensus global entre les experts pour le jugement de la typicité des vins de l'appellation A.

2. Recherche de l'existence d'un consensus autour de la notion de typicité de l'appellation A

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les variables centrées réduites experts/vins (respectivement variables et individus). Le cercle de corrélation des ACP est présenté dans la Figure 14.

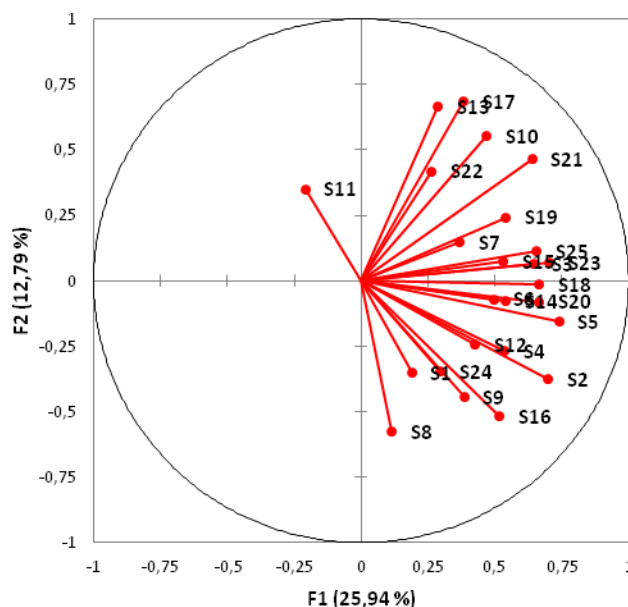


Figure 14 : Cercle de corrélation des ACP pour le jugement de la typicité des vins en 2013

En 2013, nous montrons que les résultats obtenus par le jury d'experts sont tous placés du côté positif de l'axe 1 (F1) à l'exception du sujet 11. L'axe 1 représente 25,94% de la variance totale du jugement de la typicité. La disposition des individus dans le cercle de corrélation témoigne d'un consensus entre les différents sujets sur le jugement de la typicité des différents vins. L'axe 2 (F2) représente les différences interindividuelles, qui contribuent à hauteur de 12,79% à la variance totale du jugement de la typicité. Au total, le cercle de corrélation présente une variance totale de 38,73%. Cette variance totale peut paraître peu élevée ; cependant ces résultats sont en accord avec les études similaires réalisées sur la typicité des vins comme par exemple les travaux sur la typicité du Chardonnay menés par Ballester (2004) où la variance totale ne dépassait pas les 36%. Notre étude ainsi que celle de Ballester (2004) ont été réalisées avec 25 juges et 28 juges respectivement. En dépit de l'attention particulière portée à la

sélection des dégustateurs, leur nombre important contribue très probablement à la diminution de la variance totale due aux variabilités interindividuelles.

Ces résultats nous permettent de conclure que, en dépit des désaccords ponctuels, les 25 sujets partagent des références communes de jugement sur ce qu'est un bon ou un mauvais exemple de la typicité d'un vin de l'appellation A. Par conséquent, nous montrons qu'il existe un consensus des experts autour de la notion de typicité aromatique de cette appellation.

IV. Etude de la répartition de l'ensemble des vins selon leur typicité

La carte des individus (vins) est présentée dans la Figure 15. On observe que les vins se répartissent principalement le long de l'axe 1 (F1), qui représente la typicité. Les vins localisés sur le côté positif de l'axe 1 sont de bons exemples de la typicité des vins de l'appellation A ; à l'inverse, les vins localisés du côté négatif de l'axe sont considérés comme des mauvais exemples de vins de l'appellation A. L'axe 2 (F2) représente le désaccord entre les juges. L'interprétation conjointe de la carte des sujets (Figure 14) avec la carte des vins correspondante (Figure 15) nous renseigne sur l'identité des sujets en désaccords et sur la nature des vins sur lesquels portent ces désaccords.

Cependant, il est plus intéressant d'observer la répartition des 30 vins le long de l'axe 1 (F1).

Cette carte (Figure 15) montre clairement deux groupes de vins du côté positif de l'axe 1 ; du côté négatif de l'axe 2, il apparaît un groupe de vins uniquement composé de vins de l'appellation A ; du côté positif de l'axe 2, nous retrouvons 5 vins hors appellation, 2 vins limitrophes et quelques vins de l'appellation. Le vin californien (HA-C), et les deux vins HA-FR et HA-BX2 sont totalement exclus des bons exemples de la typicité.

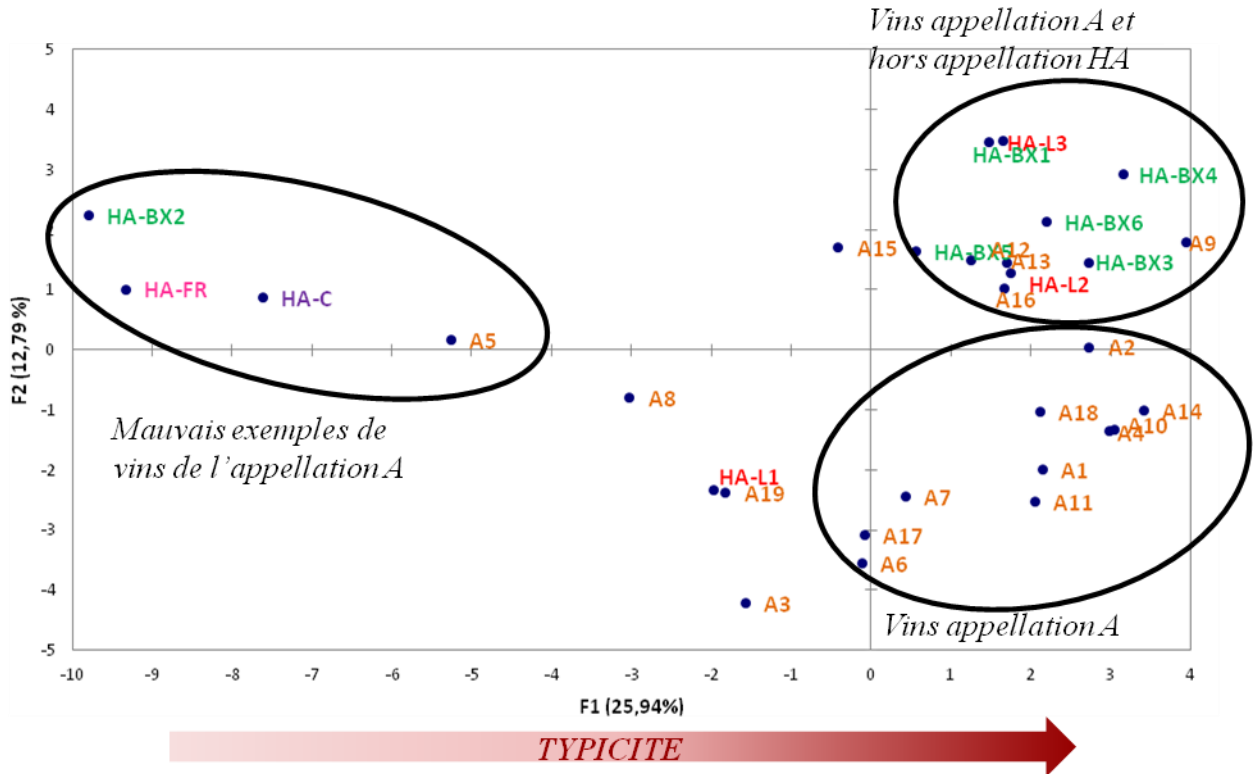


Figure 15 : Carte d'individus (vins) jugés selon les nuances de typicité

3. Discussion

Ce premier travail nous a permis de montrer que certains vins de l'appellation A présentent des attributs olfactifs qui les distinguent des autres vins rouges provenant d'autres appellations.

L'analyse des résultats révèle qu'une majorité des vins HA sont situés du côté positif de l'axe 2 (F2) alors que les vins de l'appellation A occupent l'ensemble de l'espace. Aussi, la projection des résultats associés aux descripteurs olfactifs retenus peut nous permettre de mieux comprendre cette répartition.

V. Corrélations entre typicité et descripteurs olfactifs

Nous avons voulu déterminer, à partir de notre panel d'experts, quels descripteurs étaient associés à la typicité des vins de l'appellation A. Pour ce faire, nous avons exploité les données relatives aux notes d'intensité des odeurs de fruits frais, fruits cuits, végétales et boisées de l'ensemble des vins. Dans un premier temps, nous avons cherché à comparer l'ensemble des

résultats. Une ACP est réalisée, prenant en compte le jugement de chaque sujet de la typicité des vins avec, en variables supplémentaires, la matrice des notes moyennes attribuées pour les descripteurs fruits frais, végétal, boisé et fruits cuits. Les résultats sont présentés dans la Figure 16.

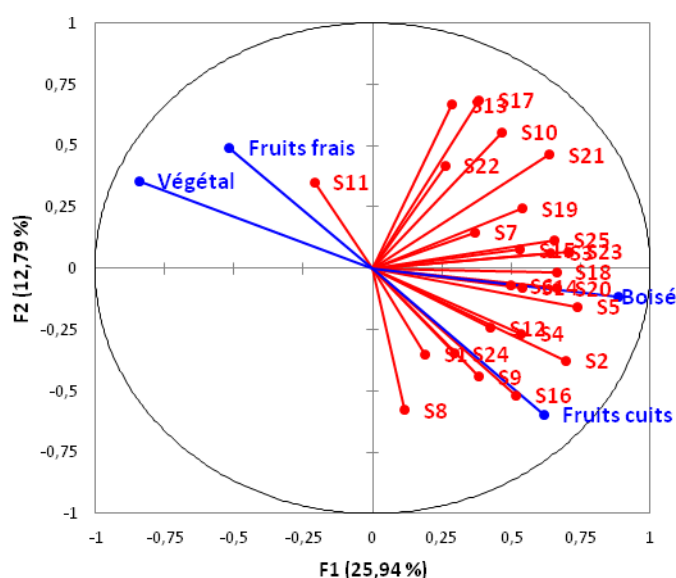


Figure 16 : Cercle de corrélation de l'ACP pour le jugement de la typicité et la matrice moyenne des intensités des descripteurs fruits frais, fruits cuits, végétal, boisé (variables supplémentaires) des vins

La représentation en ACP des résultats de l'évaluation de l'intensité des descripteurs montre que le caractère boisé est très fortement corrélé à la typicité de l'appellation A ($r^2=0.804$). Par ailleurs, comme le montre la Figure 16, un grand nombre de dégustateurs associe le caractère fruits cuits aux attributs olfactifs associés à la typicité de ces vins. A l'inverse, l'odeur végétale dirigée du côté négatif de l'axe 1 (F1) n'est pas associée à la typicité des vins l'appellation A. Le descripteur fruits frais, en raison de fortes variations interindividuelles, n'est pas un caractère discriminant de la typicité des vins sélectionnés ; il n'est pas bien représenté sur cette ACP (Figure 17).

De plus, la comparaison du cercle de corrélation (Figure 16) avec celui des vins (Figure 15) révèle que les variables boisé et fruits cuits permettent de discriminer les vins de l'appellation

A de tous les autres. En effet, les vins de l'appellation A ne présentant pas ces odeurs singulières sont confondus avec des vins hors appellation.

L'analyse de ces résultats suggère également que les vins A et HA, qui ne peuvent être différenciés selon l'intensité des descripteurs « simples » boisé, fruits frais et fruits cuits, pourraient l'être sur la base d'autres descripteurs. Toutefois, il est plutôt envisageable qu'ils soient représentatifs d'une catégorie de vin plus complexe où la subtilité des arômes les éloignerait des modèles caricaturaux marqués par ces odeurs à la fois de boisé et de fruits cuits.

Pour conclure, l'analyse sensorielle réalisée en 2013 a mis en évidence un groupe de vin qui est considéré comme un bon exemple d'illustration du type de cette appellation ; il évoque un mélange d'odeurs à la fois boisées et fruits cuits.

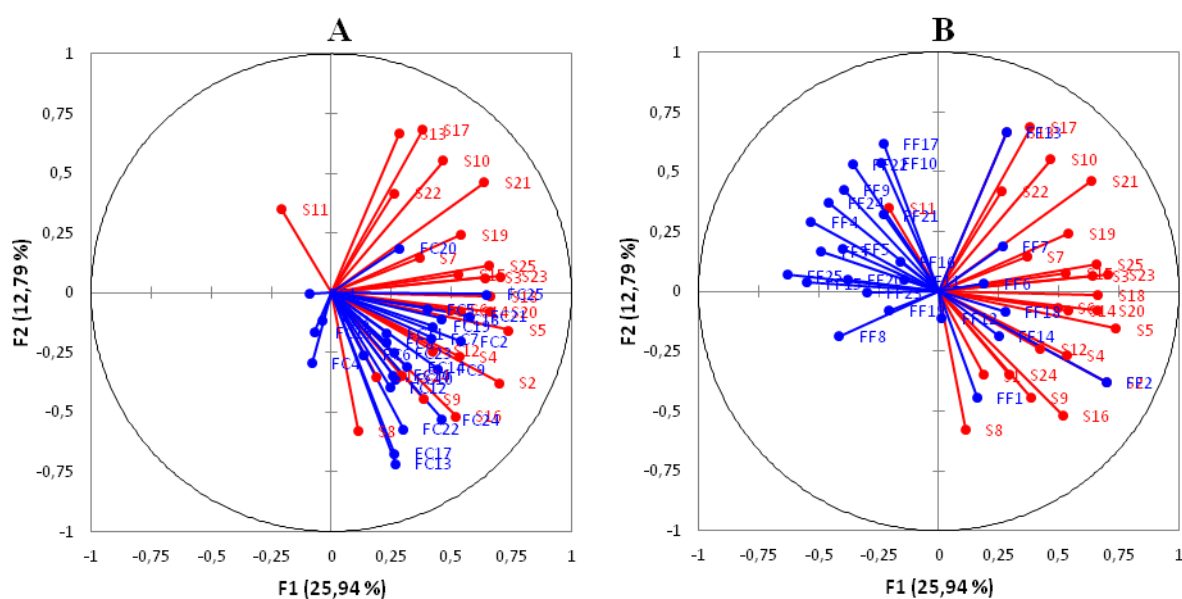


Figure 17 : Cercles de corrélation entre les jugements de la typicité (en rouge – Variables) et du caractère fruits cuits (FC, A) et fruits frais (FF, B) (en bleu – Variables supplémentaires) des vins

VI. Etude particulière de la perception du caractère fruit cuit du vin oxydé en lien avec la notion de typicité

La carte sensorielle des vins (individus) répartis selon l'intensité des odeurs de fruits cuits lors de l'analyse sensorielle est présentée dans la Figure 18.

On observe que les vins se répartissent principalement le long de l'axe 1 (F1), qui représente l'intensité du caractère fruits cuits. Les vins localisés sur le coté positif de l'axe sont de bons exemples de vins marqués par des fruits cuits à l'inverse des vins localisés du côté négatif de l'axe. La carte des vins montre que 11 vins de l'appellation A sur 19 sont placés du côté positif de l'axe 1 (Figure 18). On observe que trois vins de Bordeaux hors appellation (HA-BX) et 2 vins limitrophes de l'appellation A (HA-L) sont aussi du côté positif de l'axe 1. A l'inverse, le vin hors appellation français (HA-FR) et un vin de Bordeaux hors appellation (HA-BX2) sont localisés à l'opposé des premiers, du côté de l'axe relatif aux vins considérés comme non fruits cuits. Le vin californien, marqué à la fois par des odeurs de fruits cuits et des nuances végétales, est du côté négatif de l'axe 1.

Aussi, parmi les vins marqués par une odeur de fruits cuits, le vin le plus à droite est le vin oxydé : A19. Ce résultat obtenu par l'ensemble des dégustateurs est en accord avec les descripteurs associés à ce vin.

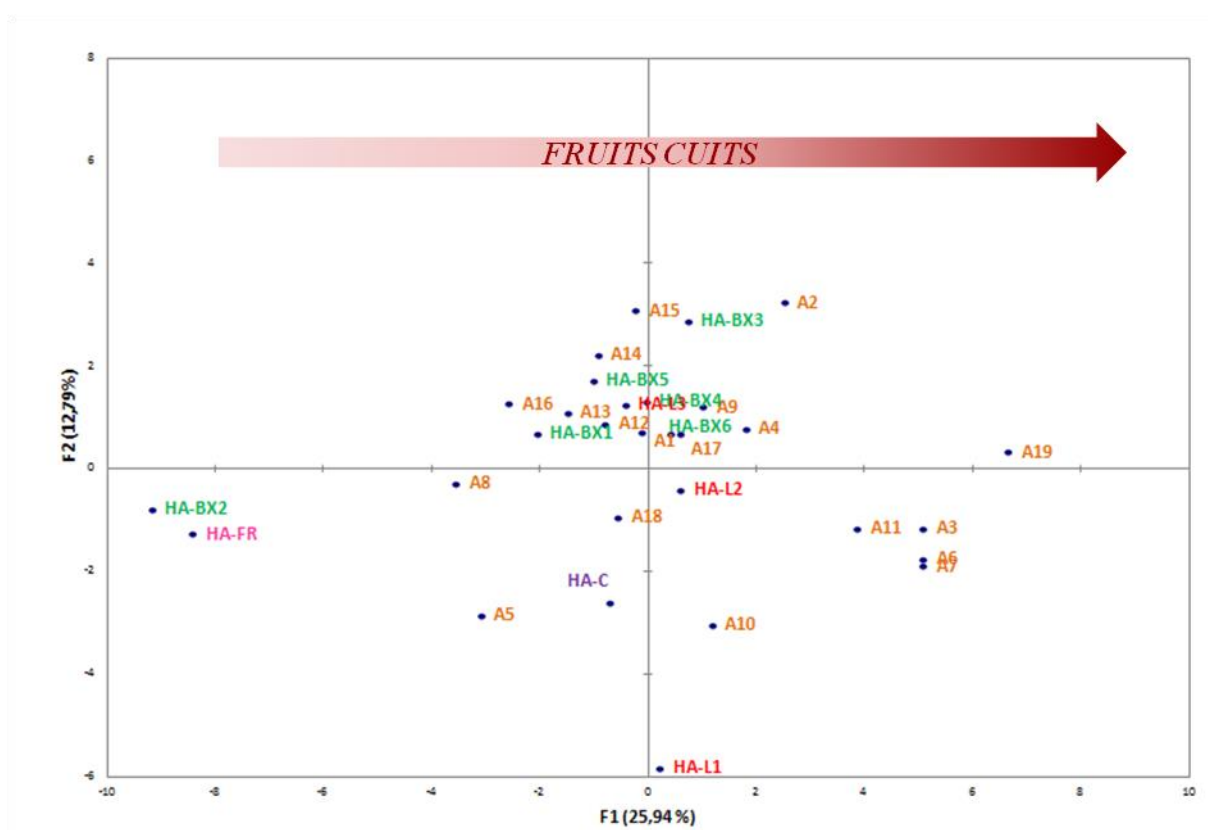


Figure 18 : Carte d'individus (vins) jugés selon les nuances de fruits cuits

Aussi, nous nous sommes intéressés à la perception de la typicité du caractère fruits cuits de ce vin oxydé par le groupe de dégustateur qui assimile le plus la typicité de cette appellation à ce caractère. Après examen de la figure 16, nous avons sélectionné cinq dégustateurs (S1, S8, S9, S16, S24) parmi les 25 présents. Nous comparons la moyenne des notes de typicité pour l'échantillon A19 par le groupe 2 et par l'ensemble des autres dégustateurs (groupe 1) dans la Figure 19. Nous montrons que les notes moyennes de typicité attribuées au vin oxydé par le groupe 1 sont inférieures à 4 alors que celles du groupe 2 dépassent 6. En dépit de cette tendance, l'analyse statistique révèle que ces différences ne sont pas significatives ($p=0,142$).

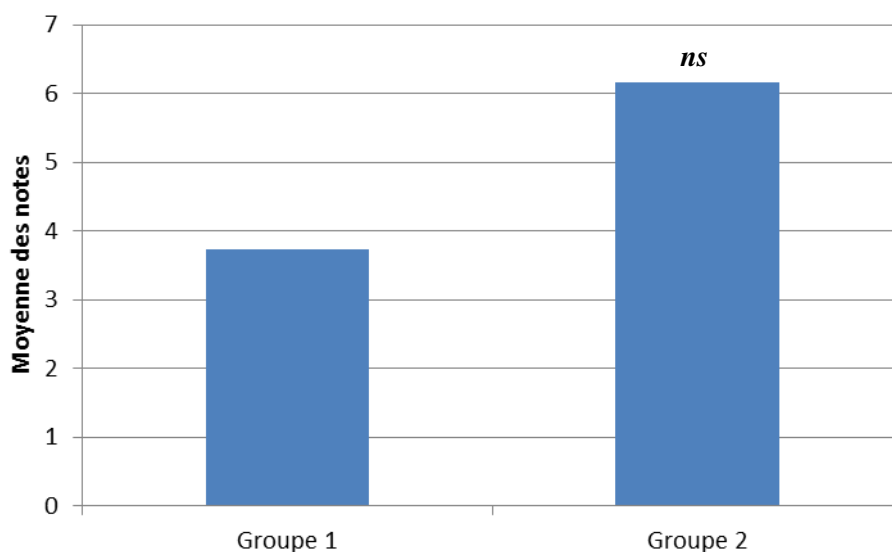


Figure 19 : Moyennes des notes de typicité obtenues par le groupe 1 (n=5) et le groupe 2 (n=25)

VII. Conclusion

Compte tenu de la diversité de l'offre proposée aux amateurs de vins, la recherche puis la promotion d'une identité forte par les AOC est un des leviers d'action permettant de promouvoir les vins élaborés en leur sein. Cette volonté est souvent confrontée à la diversité des styles de vins retrouvés au cœur d'une même appellation, en lien avec la multitude de terroirs et de façons qu'a l'homme de les valoriser. Les études réalisées dans ce chapitre nous permettent de dresser un premier bilan sur l'existence d'un espace sensoriel propre à une appellation de la région bordelaise dont les vins sont élaborés principalement à partir de Merlot.

Nous montrons que de façon générale, il existe un consensus entre les dégustateurs sur le jugement de la typicité de ces vins en dépit de nombreuses différences interindividuelles. La perception de la typicité des vins de l'appellation A, pouvant être en lien avec l'appréciation d'une qualité, est multiple ; les déterminants olfactifs sont nombreux et leurs actions complexes. En 2013, soit en moyenne entre 1 à 2 ans après avoir été mis en bouteille, les vins de l'appellation A présentant des nuances à la fois boisées et fruits cuits sont systématiquement bien discriminés des vins hors appellation. A l'inverse, les autres vins de cette appellation,

aromatiquement plus complexes, ne présentant pas distinctement ces attributs olfactifs sont moins bien discriminés des vins hors appellation. De ce fait, ces vins, singuliers de part leurs profils sensoriels, présentent une identité forte les rendant distincts des autres vins de l'appellation et des autres appellations bordelaises.

Toutefois, la similitude des descripteurs associés aux fruits cuits du vin jeune et celui du vin rouge présentant une évolution oxydative de ses arômes nous a amenés à la constatation suivante : les vins rouges marqués par des nuances fruits cuits sont bien identifiables par l'ensemble des dégustateurs. Ceux qui associent cette nuance à une typicité et d'une certaine façon à une qualité intrinsèque, auraient une tendance marquée à associer également le fruit cuit symptomatique d'une évolution défectueuse de l'arôme du vin au cours de son vieillissement en bouteille à cette notion de typicité.

CHAPITRE 2

RECHERCHE DE ZONES ODORANTES CARACTERISTIQUES DES MOUTS ET DES VINS ROUGES MARQUES PAR DES ODEURS DE FRUITS CUITS PAR CPG-O

Rechercher des composés volatils dans une matrice aussi complexe que le vin nécessite l'utilisation de techniques spécifiques. La chromatographie en phase gazeuse est la technique de choix utilisée pour séparer et étudier les composés aromatiques des vins. Elle est associée à des techniques d'olfactométrie (CPG-O) qui permettent de localiser des zones odorantes (ZO) dans un chromatogramme, ce qui facilite l'identification des composés responsables de l'odeur recherchée.

Bien que cette technique soit abondamment utilisée lors de l'analyse de l'arôme des vins, la littérature décrivant son application à l'étude de l'arôme des moûts est moins abondante. Pour autant, cette étape constitue un préalable indispensable au travail d'identification.

Ce chapitre rapporte tout d'abord la mise en place du protocole d'analyse par CPG-O des échantillons de moût et de vin. Il présente ensuite les résultats relatifs à la recherche de zones odorantes « fruits cuits », rappelant la figue, le pruneau, voire le sucre cuit, dans des extraits organiques de moûts et de vins ainsi que les premiers résultats relatifs à l'identification de certains composés odorants.

I. Origine des échantillons de moût et de vin

Les analyses par CPG-O sur un large échantillonnage de moûts et de vins évoquant des nuances de fruits cuits ou non ont été réalisées.

Les 11 moûts analysés par CPG-O sont détaillés dans le Tableau 12. Ils sont issus de raisins de Merlot ou de Cabernet-Sauvignon, des millésimes 2011 ou 2012 et proviennent de trois crus distincts localisés dans les appellations Pessac-Léognan, Saint-Emilion et Saint-Julien. Parmi eux, 3 moûts sont considérés comme les témoins ; ils proviennent de raisins récoltés à maturité (selon la définition propre au directeur technique du cru) et n'évoquent pas de nuances de fruits cuits ; 6 autres moûts analysés rappellent quant à eux des nuances de fruits cuits. Les moûts ont été prélevés une fois la cuve de vinification pleine et après le premier remontage d'homogénéisation. Enfin, 2 moûts (M10 et M11) correspondent au pressurage sous dioxyde de carbone au laboratoire de raisins récoltés dans un état de flétrissement avancé et expriment également des nuances de fruits cuits.

Tableau 12 : Caractéristiques des moûts évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O

N° échantillon	Millésime	Type	Cépage	Appellation	Odeurs de fruits cuits
M1	2011	Moût	Merlot	Pessac-Léognan	NON
M2	2011	Moût	Merlot	Pessac-Léognan	OUI
M3	2012	Moût	Merlot	Saint-Emilion	OUI
M4	2012	Moût	Merlot	Saint-Emilion	OUI
M5	2012	Moût	Merlot	Pessac-Léognan	NON
M6	2012	Moût	Merlot	Pessac-Léognan	OUI
M7	2011	Moût	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	NON
M8	2011	Moût	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI
M9	2012	Moût	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI
M10	2012	Raisins	Merlot - Flétris	Pessac-Léognan	OUI
M11	2012	Raisins	Merlot - Flétris	Saint-Emilion	OUI

Les huit vins analysés par CPG-O sont répertoriés dans le Tableau 13. Ils sont issus de raisins de Merlot ou de Cabernet-Sauvignon, des millésimes 2011 ou 2012 et des appellations Pessac-Léognan, Saint-Julien ou encore Saint-Emilion. Parmi eux, sept vins sont issus des moûts précédemment analysés et prélevés après les fermentations (M1, M4, M7, M9, M10, M11). Deux d'entre eux n'évoquent pas de nuances de fruits cuits (V1 et V2) et 6 vins sont marqués par les nuances de fruits cuits (V3 à V8). Parmi elles, les modalités V7 et V8 correspondent à la vinification au laboratoire des raisins flétris.

Tableau 13 : Caractéristiques des vins évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O

N° échantillon	Moût d'origine	Millésime	Cépage	Appellation	Odeurs de fruits cuits
V1	M1	2011	Merlot	Pessac-Léognan	NON
V2	M7	2011	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	NON
V3	M3	2012	Merlot	Saint-Emilion	OUI
V4	M4	2012	Merlot	Saint-Emilion	OUI
V5	-	2012	Merlot	Saint-Emilion	OUI
V6	M9	2012	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI
V7	M10	2012	Merlot - Flétris	Pessac-Léognan	OUI
V8	M11	2012	Merlot - Flétris	Saint-Emilion	OUI

II. Paramètres opératoires de l'analyse par CPG-O

1. Préparation et conditions d'analyse des échantillons

Un des paramètres conditionnant la pertinence des résultats obtenus lors de l'analyse par CPG-O d'extraits de moût et de vin réside dans le choix du solvant d'extraction. Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié l'aptitude du dichlorométhane, de nature moyennement polaire et du pentane, solvant apolaire, à extraire les nuances fruits cuits des moûts et des vins. En amont de l'analyse par CPG-O, nous nous sommes assurés par des tests olfactifs, de la représentativité des extraits organiques ainsi préparés. Pour ce faire, il suffit de déposer sur une mouillette en cellulose une goutte de l'extrait organique obtenu et d'évaluer les similitudes entre l'odeur perçue et celle retrouvée lors de la dégustation du vin et du moût.

Les analyses par CPG-O ont été ensuite réalisées systématiquement par deux juges afin de valider la détection des zones odorantes mais aussi afin d'éliminer le biais d'une possible anosmie spécifique à un composé volatil odorant. Chaque « sniffing » est effectué à partir de la 10^{ème} minute (après l'élution du dichlorométhane) et durant 50 minutes.

2. Choix de la colonne chromatographique

Dans un premier temps, les analyses par CPG-O des extraits (obtenus par extraction liquide-liquide) de moûts et de vins marqués ou non par les nuances fruits cuits ont été réalisées avec une colonne polaire type BP20 (Polyéthylène glycol, SGE, 50 m – 0,22 mm – 0,25 µm). Dans nos conditions expérimentales, les nuances évoquant les fruits frais, le végétal ou l'herbacé apparaissent entre 10 et 35 minutes alors que celles caractéristiques des fruits cuits, fruits confiturés, apparaissent après 35 minutes. Au cours de ces expériences préliminaires, le choix de cette colonne chromatographique nous a permis de mettre en évidence de nombreuses zones odorantes « fruits cuits » mais peu différenciables d'un point de vue olfactif. Ainsi, le manque de résolution de ces premières chromatographies d'extraits de moût et de vin associée à des phénomènes de co-élution nous a orienté vers d'autres types de phases stationnaires, de natures chimiques différentes.

Dans un second temps, les analyses par CPG-O ont été réalisées avec une colonne apolaire BPX5 (5% phenyl polysilphenylène-siloxane, SGE, 50 m – 0,22 mm – 0,25 µm). Dans nos

conditions expérimentales, les zones odorantes évoquant les fruits frais, le végétal ou l'herbacé apparaissent entre 10 et 20 minutes ; alors que celles caractéristiques des fruits cuits apparaissent après 20 minutes. Ainsi, avec l'utilisation de cette colonne chromatographique, nous avons remarqué que la plupart des zones odorantes « fruits cuits-confiturés » sont bien séparées. Ainsi, dans une première phase prospective, ce type de greffage a été retenu.

III. Exemple d'aromagrammes obtenus à partir d'extraits organiques de moûts marqués ou non par des nuances de fruits cuits

Nous avons extrait puis analysé par CPG-O l'ensemble des moûts présentés dans le Tableau 12. A titre d'exemple, nous présentons les aromagrammes issus d'extraits organiques d'un moût témoin de Merlot dont l'odeur peu intense évoque des notes plutôt florales (Tableau 12, M1) et d'un moût marqué très nettement par des odeurs de fruits cuits (Tableau 12, M2). Les résultats des aromagrammes sont présentés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Comparaison des aromagrammes obtenus à partir d'extraits organiques de moûts de Merlot marqués ou non par les nuances de fruits cuits (colonne apolaire)

Tr¹ (minutes)	IRL²	Extrait d'un moût témoin	Extrait d'un moût «fruits cuits »
10,6	810	---	Fraise
10,7	812	Herbacé	Herbacé
11,6	832	Végétal, rance	Végétal, rance
12,3	849	---	Fromage
12,5	854	Fraise	---
12,8	861	---	Mûre
13	865	Herbacé	---
13,6	879	Herbacé	---
13,7	882	Pain, levure	Pain, levure
14,9	910	Solvant	Solvant
15,5	921	Terre humide	---
15,7	925	Pomme de terre cuite	Pomme de terre cuite
17,2	955	---	Pain, levure
18,6	980	---	Amande amère
18,9	990	Champignon	Champignon
19,1	994	Terre humide	Terre humide
19,3	998	Vomi	Vomi
19,7	1006	Sucre cuit	Sucre cuit
20,9	1024	Terre, champignon	---
21,9	1050	Brûlé	---
22,6	1064	Miel, cire	Miel, cire
23,4	1079	---	Sucre cuit
24,4	1098	---	Moisi terreux
24,7	1104	Végétal	Végétal
25,6	1123	---	Rose
26,3	1137	Rose	Rose
27,5	1162	Végétal	Végétal
28,4	1180	Sucre cuit	Sucre cuit
30,1	1215	---	Curry, sucre cuit
33,2	1280	---	Anisé, noyau de pruneau
34,1	1299	---	Fruits cuits, vanillé
34,4	1307	---	Moisi, terreux
34,7	1314	---	Fruits cuits
35,1	1323	Caoutchouc	---
35,5	1331	---	Anisé
36,9	1363	---	Pêche cuite
37,8	1381	Compote de pommes	Compote de pommes
42,5	1493	---	Fruits cuits, épicé
44,6	1541	---	Fruits cuits, vanillé
49,4	1667	---	Fruits cuits, coco
52,4	1750	---	Fruits cuits
56,1	1855	---	Fruits cuits

1 : Temps de rétention – 2 : Indice linéaire de rétention – Colonne apolaire : BPX5 (50m – 0,22mm – 0,25µm)

L'analyse de la distribution des zones odorantes retrouvées dans les aromagrammes de moûts marqués ou non par des odeurs « fruits cuits » révèle des différences quantitatives mais

également qualitatives. L'aromagramme du moût témoin présente moins de zones odorantes comparé à celui du moût marqué par les nuances « fruits cuits » ; on dénombre 22 zones odorantes pour le moût témoin, 35 zones odorantes pour le moût marqué « fruits cuits » (FC).

Les zones odorantes aux nuances végétales, herbacées et fruits frais sont majoritaires dans le moût témoin (au nombre de 8) et sont perçues en moyenne comme beaucoup plus intenses que dans les modalités FC.

De nombreuses zones odorantes évoquant les odeurs retrouvées dans les moûts marqués FC ont été détectées. Au nombre de 3 dans le moût témoin, 15 ZO ont été détectées dans le moût marqué FC. Par ailleurs, les deux zones odorantes évoquant le sucre cuit (IRL 1006 et IRL 1080) dans le moût témoin sont perçues comme moins intenses que celles retrouvées dans le moût marqué FC. En revanche, la zone odorante « compote de pomme » (IRL 1381) est détectée avec la même intensité dans les deux moûts.

IV. Exemple d'aromagrammes obtenus à partir d'extraits organiques de vins marqués ou non par des nuances de fruits cuits

Nous avons analysé différents vins rouges par CPG-O (Tableau 13). Deux exemples d'aromagrammes sont présentés dans le Tableau 15 : un aromagramme d'un vin témoin marqué par un mélange complexe de notes fruitées et florales (Tableau 13, V1) et un aromagramme d'un vin marqué par des nuances de fruits cuits (Tableau 13, V3).

Tableau 15 : Comparaison des aromagrammes obtenus à partir d'extraits organiques de vins de Merlot marqués ou non par les nuances de fruits cuits (colonne apolaire)

Tr¹ (minutes)	IRL²	Extrait du vin témoin	Extrait du vin de « fruit cuit »
10,8	815	Fraise	Fraise
11,2	825	Herbacé	Herbacé
11,6	832	Végétal, rance	Végétal, rance
12,5	854	Solvant	---
12,8	861	---	Mûre
13,5	878	Fromage	Fromage
13,7	882	Pain, levure	Pain, levure
14,9	910	---	Solvant
15,1	913	Fromage	---
15,4	919	Végétal	---
15,5	921	---	Terre humide
15,7	925	Pomme de terre cuite	Pomme de terre cuite
15,9	929	Brûlé	---
17,1	953	Pain, levure	Pain, levure
18,2	976	Fromage	---
18,4	980	---	Amande amère
18,9	990	Champignon	Champignon
19,3	998	Vomi	Vomi
19,7	1006	---	Sucre cuit
19,8	1007	Caoutchouc	---
20,8	1028	---	Plastique chaud
21,2	1035	Légumes cuits	Légumes cuits
22,6	1064	Miel, cire	Miel, cire
23,4	1079	---	Sucre cuit
24	1091	---	Champignon
24,7	1106	Brûlé	Brûlé
25	1111	Végétal, cuit	---
25,4	1120	---	Plastique chaud
25,9	1129	---	Fruits rouges, lourd
26,3	1137	Rose	Rose
27,5	1162	Végétal	---
28,4	1180	Sucre cuit	Sucre cuit
29,3	1198	---	Végétal
30,1	1215	---	Curry, sucre cuit
31,6	1247	---	Sucre cuit
33,2	1280	---	Anisé, noyau de pruneau
34,7	1314	---	Fruits cuits
36,9	1363	---	Pêche cuite
37,8	1381	Compote de pommes	Compote de pommes
42,5	1493	---	Fruits cuits, épicé
43	1505	Floral	---
44,6	1541	---	Fruits cuits, vanillé
46,6	1595	---	Fruits cuits
49,4	1667	---	Fruits cuits, coco
52,4	1750	---	Fruits cuits
56,1	1855	---	Fruits cuits
58,2	1916	---	Fruits cuits

1 : Temps de rétention – 2 : Indice linéaire de rétention – Colonne apolaire : BPX5 (50m – 0,22mm – 0,25µm)

De la même façon que pour les moûts, des différences importantes sont observées dans les aromagrammes de vins marqués ou non par des nuances « fruits cuits ». Ainsi, dans nos conditions expérimentales, on dénombre au total 25 zones odorantes pour le vin témoin et 38 zones odorantes pour le vin marqué par les nuances de fruits cuits.

Les zones odorantes végétales, herbacées, fruits frais et florales sont au nombre de 8 dans le vin témoin et sont beaucoup plus intenses que celles présentes dans le vin marqué FC (au nombre de 5). Les zones odorantes évoquant les FC ou encore le sucre cuit sont au nombre de 16 dans le vin marqué FC. Une seule zone odorante de sucre cuit est retrouvée à la fois dans le vin témoin et le vin FC (IRL 1180). La zone odorante aux nuances de compote de pomme (IRL 1381) retrouvée dans les deux modalités est perçue avec la même intensité.

V. Discussion

L'analyse par CPG-O des extraits organiques de 11 moûts et 8 vins marqués ou non par des odeurs de fruits cuits a été répétée au minimum deux fois.

Pour l'ensemble des moûts et des vins analysés, dès lors qu'à la dégustation, l'arôme de l'échantillon évoque des nuances « fruits cuits », le nombre de zones odorantes présentant des odeurs végétales, diminue au profit de zones odorantes rappelant ces odeurs « fruits cuits ».

Au final, l'analyse des aromagrammes obtenus par CPG-O valide la présence de zones odorantes spécifiques associées aux odeurs retrouvées à la fois dans les moûts et les vins. Ce résultat confirme clairement l'hypothèse initiale sur laquelle repose ce travail, à savoir l'existence de marqueurs moléculaires spécifiques en lien avec les odeurs « fruits cuits » des raisins et des vins.

L'analyse de l'ensemble des aromagrammes obtenu sur colonnes apolaire et polaire nous a permis de mettre en évidence des zones odorantes en lien avec la présence des nuances « fruits cuits » des moûts et des vins : elles sont au nombre de 20. Leur distribution est précisée dans le Tableau 16. Dans ce dernier, les moûts et les vins dit « flétris » correspondent aux échantillons élaborés à partir de raisins flétris (M10 et M11 ; V7 et V8).

Tableau 16 : Distribution des vingt zones odorantes d'intérêt détectées par CPG-O dans les moûts et les vins marqués ou non par des nuances « fruits cuits » sur colonne polaire^a et apolaire^b

ZO	IRL ¹	Descripteurs	Colonne	Moûts			Vins		
				Témoins	Fruits cuits	Flétris	Témoins	Fruits cuits	Flétris
1	1006	sucré cuit	Apolaire	*	*	*	<i>Nd</i>	*	*
2	1079	sucré cuit	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
3	1180	sucré cuit	Apolaire	*	*	*	*	*	*
4	1215	curry	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
5	1247	sucré cuit	Apolaire	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	*	*
6	1280	anisé, noyau de pruneau	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
7	1299	fruits cuits, vanillé	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
8	1314	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
9	1331	anisé, noyau de pruneau	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	**	**
10	1363	pêche cuite	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
11	1381	compote de pommes	Apolaire	*	*	*	*	*	*
12	1493	fruits cuits, épicé	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
13	1541	fruits cuits, vanillé	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
14	1667	fruits cuits, coco	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
15	1750	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
16	1855	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
17	1916	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	*	*
18	1376	géranium	Polaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
19	1984	fruits cuits, coco	Polaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	**	**
20	2235	noix de coco, figue	Polaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	**	**

1 : Indice linéaire de rétention - *Nd* : Non détecté - * : détecté en CPG-monodimensionnelle - ** : détecté en CPG-bidimensionnelle

a : BP20 (50m – 0,22mm – 0,25µm) ; b : BPX5 (50m – 0,22mm – 0,25µm)

On dénombre 17 zones odorantes détectées à l'aide d'une colonne apolaire et 3 avec une colonne polaire.

La plupart des zones odorantes répertoriées sont retrouvées spécifiquement dans les moûts et les vins marqués par des odeurs de fruits cuits. Cependant, certaines d'entre elles présentent des distributions particulières. Par exemple, la ZO 5 et la ZO 17 ne sont pas détectées dans les moûts et sont retrouvées dans les vins marqués par les odeurs FC. On peut émettre l'hypothèse que ces composés sont libérés au cours de la fermentation alcoolique. La ZO 1 est retrouvée systématiquement dans les moûts, tout comme la ZO 3 qui est détectée dans les moûts et également dans les vins. Ces dernières, sont perçues comme plus intenses dans les échantillons de moûts et de vins marqués par les nuances FC.

Étonnamment, trois ZO d'intérêt ne sont pas détectées dans les vins marqués par les odeurs de fruits cuits (ZO 9, ZO 19 et ZO 20) alors que les moûts étaient marqués par ces odeurs. Nous avons émis l'hypothèse qu'un phénomène de co-élution, fréquent lors de l'analyse par CPG-monodimensionnelle, puisse être à l'origine d'un effet masque très important. Aussi, l'utilisation d'une technique plus résolutive telle que la CPG-bidimensionnelle, couplée à l'olfactométrie utilisant une colonne polaire connectée en série à une colonne apolaire, nous a permis de valider leur présence dans les échantillons de vin.

Parmi les zones odorantes d'intérêt détectées sur colonne apolaire, la ZO 11 aux nuances de compote de pommes n'apparaît pas comme discriminante puisque cette zone est détectée et perçue avec la même intensité dans chaque modalité. Cependant, l'approche analytique retenue, basée essentiellement sur les similitudes d'odeurs, ne permet pas de conclure précisément sur l'intensité de l'odeur perçue lors de l'analyse en CPG-O. Aussi, cette odeur de compote de pommes étant intéressante pour nos travaux, nous avons donc par la suite cherché à l'identifier.

La ZO18 évoquant des odeurs de géranium est retrouvée spécifiquement dans les modalités marquées par les odeurs de fruits cuits. Bien qu'elle ne soit pas associée clairement à ce descripteur, sa présence dans les modalités « fruits cuits » ainsi que sa très forte intensité nous a amenés à nous intéresser au composé associé à cette ZO.

VI. Incidence du passerillage sur la formation des zones odorantes d'intérêt

1. Protocole expérimental

Un même lot de raisin a été soumis ou non à un protocole de passerillage en conditions contrôlées au laboratoire. Cette méthode, permettant de sur-mûrir artificiellement les baies dans une enceinte climatisée, nécessite le contrôle de la luminosité, la température et l'hygrométrie. Le mode opératoire est décrit dans la Partie 2-IV. Au total, 4 moûts issus de raisins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon témoins ainsi les 4 moûts issus de leur passerillage au laboratoire ont été extraits (Tableau 17). Les extraits organiques récupérés ont été analysés par CPG-O ainsi que les vins issus de leur vinification.

Tableau 17 : Caractéristiques des moûts issus de raisins passerillés ou non et évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O

N° échantillon	Millésime	Type	Cépage	Appellation	Evoque des odeurs de fruits cuits ou non
M12	2011	Raisins	Merlot	Pessac-Léognan	NON
M13	2012	Raisins	Merlot	Pessac-Léognan	NON
M14	2011	Raisins	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	NON
M15	2012	Raisins	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	NON
M12-FC	2011	Raisins passerillés	Merlot	Pessac-Léognan	OUI
M13-FC	2012	Raisins passerillés	Merlot	Pessac-Léognan	OUI
M14-FC	2011	Raisins passerillés	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI
M15-FC	2012	Raisins passerillés	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI

Les vins issus de la vinification des 8 moûts obtenus ont été analysés (Tableau 18).

Tableau 18 : Caractéristiques des vins issus de raisins passerillés ou non et évoquant ou non des nuances de fruits cuits analysés par CPG-O

N° échantillon	Millésime	Type	Cépage	Appellation	Evoque des odeurs de fruits cuits ou non
V12	2011	Raisins	Merlot	Pessac-Léognan	NON
V13	2012	Raisins	Merlot	Pessac-Léognan	NON
V14	2011	Raisins	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	NON
V15	2012	Raisins	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	NON
V12-FC	2011	Raisins sur-muris	Merlot	Pessac-Léognan	OUI
V13-FC	2012	Raisins sur-muris	Merlot	Pessac-Léognan	OUI
V14-FC	2011	Raisins sur-muris	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI
V15-FC	2012	Raisins sur-muris	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	OUI

2. Résultats

A la dégustation, les moûts de raisins non passerillés (Témoin) ne sont pas marqués par ces nuances de fruits cuits alors que ceux provenant de raisins passerillés sur souche ou au laboratoire présentent très nettement ces odeurs. La distribution des zones odorantes d'intérêt retrouvées dans les échantillons de moût et de vin est répertoriée dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Comparaison de la distribution des vingt zones odorantes d'intérêt détectées par CPG-O dans les moûts et les vins issus de raisins marqués par des nuances fruits cuits et ceux issus de raisins passerillés au laboratoire et passerillés sur souche sur colonne polaire^a et apolaire^b

ZO	IRL ¹	Descripteurs	Colonne	Moûts			Vins		
				Témoins	Flétris	Passerillés labo	Témoins	Flétris	Passerillés labo
1	1006	sucre cuit	Apolaire	*	*	*	<i>Nd</i>	*	*
2	1079	sucre cuit	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
3	1180	sucre cuit	Apolaire	*	*	*	*	*	*
4	1215	curry	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
5	1247	sucre cuit	Apolaire	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	*	*
6	1280	anisé, noyau de pruneau	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
7	1299	fruits cuits, vanillé	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
8	1314	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
9	1331	anisé, noyau de pruneau	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	**	**
10	1363	pêche cuite	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
11	1381	compote de pommes	Apolaire	*	*	*	*	*	*
12	1493	fruits cuits, épicé	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
13	1541	fruits cuits, vanillé	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
14	1667	fruits cuits, coco	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
15	1750	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
16	1855	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
17	1916	fruits cuits	Apolaire	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	*	*
18	1376	Géranium	Polaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	*	*
19	1984	fruits cuits, coco	Polaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	**	**
20	2235	noix de coco, figue	Polaire	<i>Nd</i>	*	*	<i>Nd</i>	**	**

1 : Indice linéaire de rétention - *Nd* : Non détecté - * : détecté en CPG-monodimensionnelle - ** : détecté en CPG-bidimensionnelle

a : BP20 (50m – 0,22mm – 0,25µm) ; b : BPX5 (50m – 0,22mm – 0,25µm)

L'ensemble des ZO caractéristiques des moûts et des vins marqués par des nuances fruits cuits sont retrouvées à la fois dans les extraits organiques de moûts et de vins issus de raisins passerillés sur souche et hors souche, au laboratoire. Le protocole de passerillage au laboratoire est donc capable de reproduire les conditions de passerillage au vignoble lors de la sur-maturation des baies.

VII. Conclusion

A partir d'extraits organiques de moûts et de vins marqués par des arômes de fruits cuits, nous avons mis en évidence par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection olfactométrique, 19 zones odorantes dont l'odeur rappelle celle des moûts et des vins (fruits cuits, pêche cuite, sucre cuit, ...). De plus, nous avons mis en évidence une zone odorante singulière (ZO18) rappelant le géranium dont l'intensité est fortement liée à la présence des nuances fruits cuits retrouvées dans les moûts.

L'étude de la distribution des zones odorantes d'intérêt dans les moûts et les vins issus de raisins passerillés nous a permis de confirmer le lien entre l'état physiologique particulier des baies flétries et la présence d'arômes de fruits cuits retrouvés dans les moûts et les vins élaborés à partir de ces raisins.

Enfin, nous montrons que le protocole de passerillage en conditions de laboratoire contrôlées a permis de reproduire les arômes retrouvés au cours du passerillage sur souche.

Dans la suite de cette étude, un travail d'identification de ces zones odorantes a été réalisé.

CHAPITRE 3

IDENTIFICATION DES COMPOSES VOLATILS ASSOCIES AUX ZONES ODORANTES D'INTERET

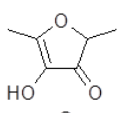
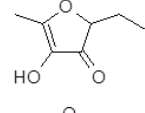
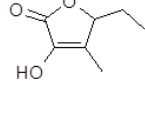
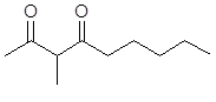
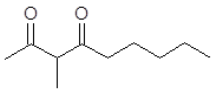
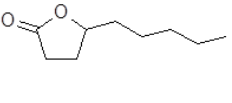
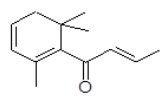
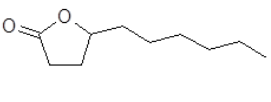
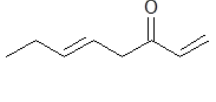
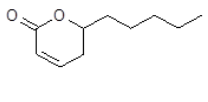
I. Méthodologie

Afin d'identifier les composés correspondants aux zones odorantes d'intérêt, nous avons, dans un premier temps, recherché la correspondance entre les descripteurs sensoriels et les IRL des composés connus pour deux types de phase stationnaire (polaire/apolaire). Puis, grâce à l'analyse des échantillons de moût et de vin par CPG-O-MS et lorsqu'un pic chromatographique était présent, les données spectrales (EI) ont été comparées avec les données retrouvées dans les bibliothèques NIST et Willey.

Dans le cas de composés co-élus en CPG-monodimensionnelle, l'identification a été rendue possible par l'utilisation de la CPG-bidimensionnelle couplée à un spectromètre de masse de type temps de vol (CPG-CPG-TOF-MS). Enfin, la validation définitive de l'identification a été réalisée par co-injections des produits commerciaux à des extraits de moût et de vin. Au final, 10 zones odorantes ont ainsi pu être associées (Tableau 20) à des composés connus. En revanche, comme nous allons le préciser, la mise en évidence de l'une d'entre elles dans les moûts est réalisée pour la première fois.

II. Résultats

Tableau 20 : Identification des zones odorantes (ZO) détectées par CPG-O dans les extraits de moûts et de vins marqués par des nuances de fruits cuits

ZO n°	IRL	Descripteurs	Composés	Formules développées	Identification
2	1079*	Sucre cuit	Furanéol		IRL, CPG-O
3	1180*	Sucre cuit	Homofuranéol		IRL, CPG-O
4	1215*	Curry, sucre cuit	Abhexone		IRL, CPG-O
6	1280*	Anisé, noyau de pruneau	3-méthyl-2,4-nonanedione		IRL, CPG-O, SM
9	1331*	Anisé, noyau de pruneau	3-méthyl-2,4-nonanedione		IRL, CPG-O, CPG-CPG-SM
10	1363*	Pêche cuite	γ -nonalactone		IRL, CPG-O, SM
11	1381*	Compote de pommes	β -damascénone		IRL, CPG-O
12	1493*	Fruits cuits, épicé	γ -décàlactone		IRL, CPG-O, SM
18	1376**	Géranium	(Z)-1,5-octadien-3-one		IRL, CPG-O
20	2235**	Noix de coco, figue	Massoia lactone		IRL, CPG-O, CPG-CPG-SM

* : Colonne apolaire BPX5 - ** : Zones odorantes détectées uniquement sur colonne polaire BP20 – IRL : indice linéaire de rétention
SM : spectre de masse – CPG-CPG : CPG-bidimensionnelle

Parmi les 20 ZO d'intérêt sélectionnées précédemment, nous avons identifié 10 d'entre elles. Elles correspondent à des composés connus. Les zones ZO9 (3-méthyl-2,4-nonanedione), ZO2 (furanéol), ZO3 (homofuranéol), ZO4 (abhexone), ZO11 (β -damascénone) et ZO18 ((Z)-1,5-octadien-3-one) ont été identifiées par correspondance des IRL et de leurs descripteurs sensoriels avec ceux de la littérature. L'identification des ZO6, ZO10 et ZO12 a été complétée par la

comparaison de leur spectre de masse (EI) avec celui des bibliothèques. Enfin, la ZO 20 (massoia lactone), co-éluées en CPG-monodimensionnelle a été identifiée par CPG-bidimensionnelle.

Les ZO 6 et 9 correspondent au même composé odorant, la 3-méthyl-2,4-nonandione, dont les deux formes énoliques sont séparées sur colonne apolaire (Pons *et al.*, 2008b). Sur colonne polaire, une seule odeur est perçue.

La ZO11 a été identifiée à la β -damascénone. Ce composé évoque à la fois une odeur fleurie et fruitée rappelant la compote de pomme. Dans nos échantillons, ce composé est retrouvé à la fois dans les moûts et les vins pour les modalités témoin et « fruits cuits ». Il est perçu pour chaque modalité avec la même intensité. Aussi, seuls les dosages pourront mettre en évidence son implication dans les nuances fruits cuits retrouvées dans les moûts et les vins. Au cours de ses travaux sur l'arôme de fruits cuits des vins prématurément vieillis, Pons (2006) avait montré que les teneurs en β -damascénone étaient systématiquement inférieures au seuil de recouvrement dans les vins rouges (7 $\mu\text{g/L}$) et qu'il n'existait pas de relations directes entre la teneur en β -damascénone dans un vin rouge et l'intensité du caractère pruneau perçu à la dégustation. Par ailleurs, d'autres travaux plus récents ont montré que dans les moûts, les teneurs étaient faibles (jusqu'à 5 $\mu\text{g/kg}$ dans des moûts de cépages hybrides) et non associées à la maturité des baies (Sefton *et al.*, 2011). Aussi, pour toutes ces raisons, nous n'avons pas retenu ce composé dans la suite de notre étude.

Parmi les 20 zones odorantes d'intérêt décrites dans le chapitre 2, deux zones odorantes caractérisées par des odeurs de sucre cuit et 8 zones odorantes rappelant les fruits cuits restent inconnues. Pour dix d'entre elles, l'analyse par CPG-O-SM ne nous a pas permis de mettre en évidence un spectre de fragmentation en EI associé à un pic chromatographique au temps de rétention de la ZO d'intérêt. En revanche, cette approche a été fructueuse pour la ZO 19, pour laquelle nous avons obtenu un pic chromatographique associé à un spectre de masse. Un travail d'identification a été mené ; nous le présentons ci-après.

III. Tentatives d'identification du composé associé à la ZO19 (C-ZO19)

1. Données chromatographiques et spectrales

La ZO19 correspondant au composé inconnu est détectée uniquement dans les modalités sur-muries qui évoquent des odeurs de fruits cuits très intenses. Ce composé sera nommé C-ZO19 dans la suite de notre travail. Cette zone odorante correspond à un composé, dont le spectre de masse ne correspond à aucune molécule dans la bibliothèque NIST. Il est détecté dans les vins et les moûts issus de raisins sur-muris par SPME-CPG-SM avec une colonne polaire (BP20), a été aussi détecté par CPG-O-MS à partir d'un extrait obtenu par extraction liquide-liquide avec une colonne polaire (BP20). Le spectre de masse de ce composé obtenu par impact électronique à l'aide d'un analyseur de type temps de vol (TOF) est présenté dans la Figure 20. Les ions majoritaires en impact électronique sont le 99 et le 71. Son indice de rétention linéaire sur colonne polaire est 1984.

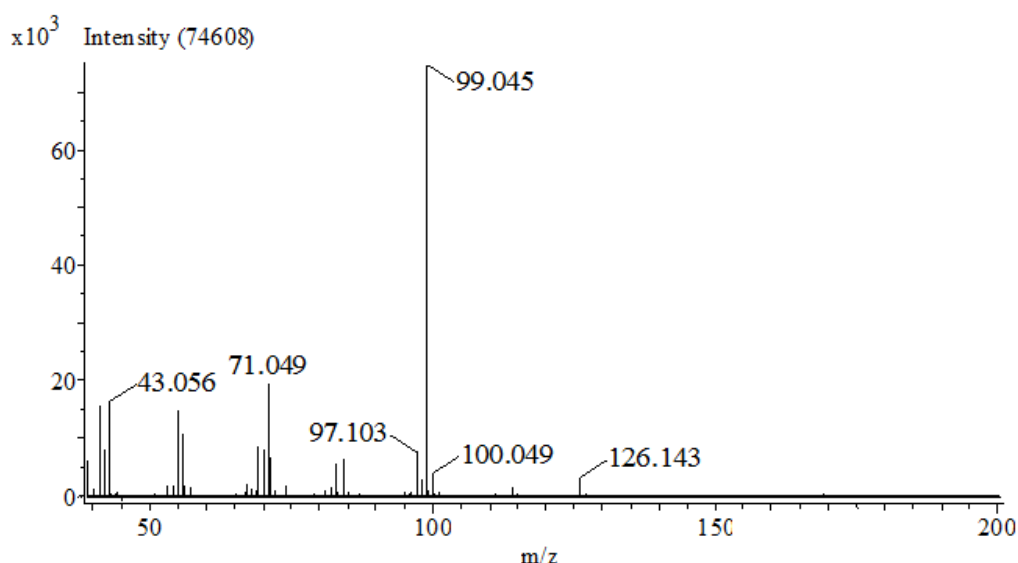


Figure 20 : Spectre de fragmentation (EI, 70 eV) du C-ZO19 (CPG-TOF-SM)

2. Distribution dans les moûts et les vins

Par la suite, nous avons analysé ce composé par CPG-SM (trappe à ions) dans les extraits de moûts témoin et FC obtenus pour les analyses en CPG-O. Nous montrons que le pic chromatographique (m/z 99) du composé C-ZO19 est beaucoup plus important dans la modalité

FC que dans le témoin. Ces résultats confortent ceux obtenus en CPG-O qui laissaient présager une concentration plus élevée dans la modalité FC (Figure 21).

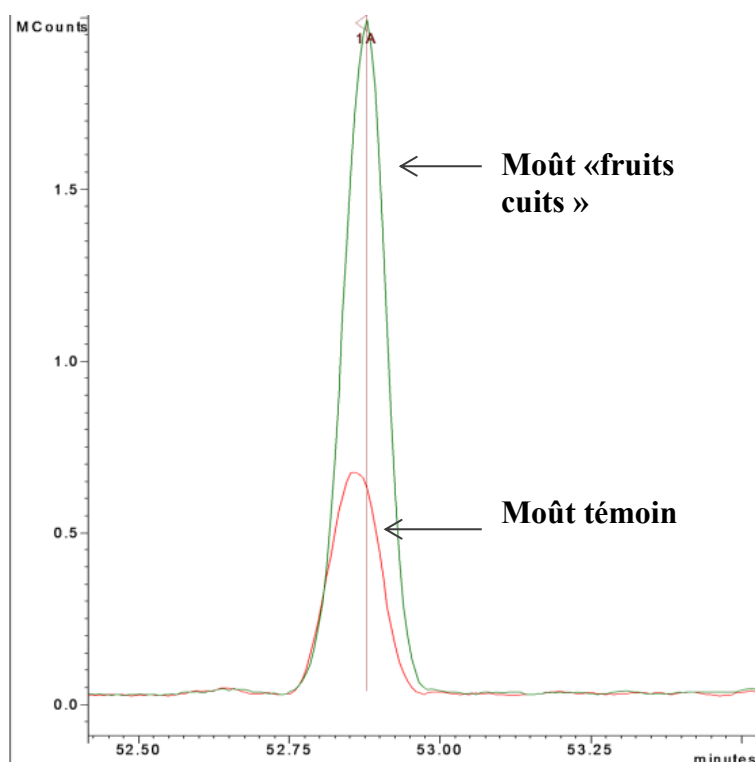


Figure 21 : Exemple de chromatogramme d'un moût témoin et d'un moût rappelant l'odeur des fruits cuits (m/z 99)

En préambule du travail de caractérisation, nous avons réalisé une semi-quantification de ce composé dans les échantillons de moût et de vin analysés en CPG-O, en comparant les rapports de l'aire du pic du composé C-ZO19 sur l'aire du pic de l'étalon interne (3-octanol). Les résultats sont présentés dans la Figure 22 sous forme de boîtes de dispersion. Les rapports ont été soumis au test statistique de l'ANOVA afin de rechercher des différences significatives entre les modalités. Nous montrons que ce composé est retrouvé de façon significativement plus importante dans les modalités FC. Cette approche nous permet également de souligner le rôle probable du métabolisme levurien dans la formation de ce composé dans les vins ; les teneurs retrouvées dans les vins FC sont en moyenne cinq fois plus élevées que dans les moûts FC.

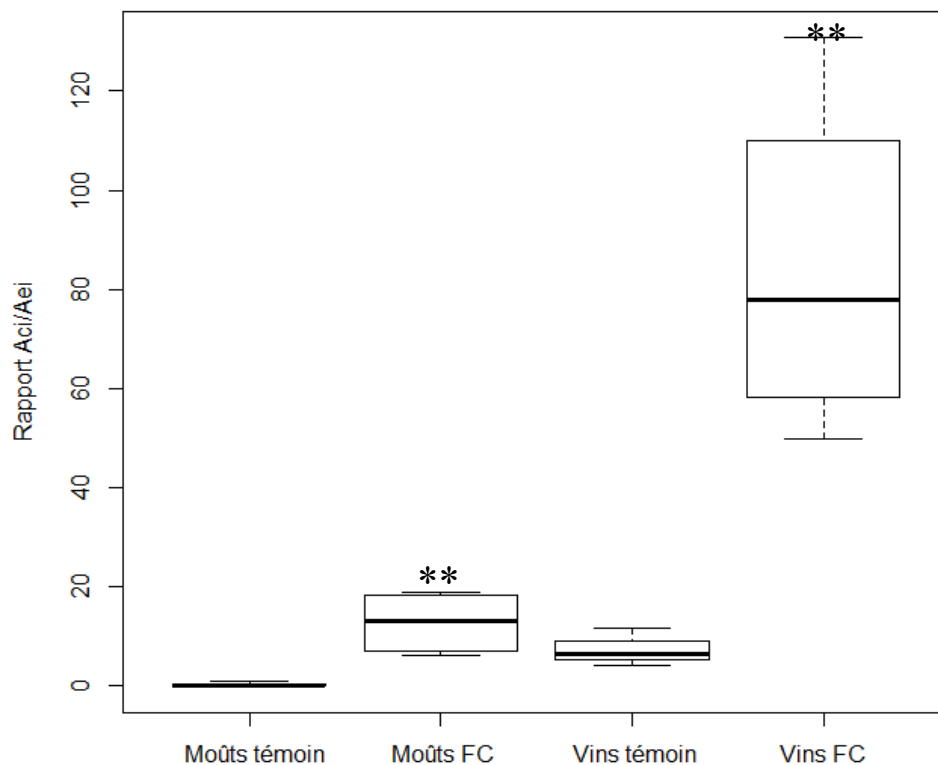


Figure 22 : Comparaison de la distribution des rapports de l'aire du composé C-ZO19 (Aci) sur l'aire de l'étalon interne (Aei) des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (représentation en « boîte à moustaches » de Tukey) ** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)

Ces résultats nous ont conduits à entreprendre un travail de caractérisation.

3. Détermination de la formule brute

Nous avons utilisé un spectromètre de masse Jeol accutofMS pour la détermination de la formule brute à partir de la connaissance de la valeur m/z de l'ion moléculaire de ce composé. Après calibration interne de l'appareil avec les ions du FC43, l'analyseur atteint une résolution en masse proche de 6000. Le traitement des résultats ainsi que la détermination de la formule brute est obtenue grâce au logiciel MassCenter.

Afin de déterminer la masse molaire du composé, il nous faut identifier l'ion quasi-moléculaire $[M+H]^+$ de ce composé. Pour ce faire, nous avons mené des expériences en CPG-SM en mode CI positive avec de l'ammoniac comme gaz réactant. L'ionisation chimique est un mode d'ionisation plus doux que celui de l'impact électronique permettant le plus souvent d'accéder à l'ion moléculaire (Figure 23). Selon Harrison (1992), lors de l'utilisation de l'ammoniac, la

formation de l'ion MH^+ est souvent en compétition avec celle d'adduits. Ces adduits sont d'autant plus abondants que le composé est polaire et peu basique. Le spectre de fragmentation obtenu par ionisation chimique est très simple et ne présente pas d'ions fils. Il est dominé par deux ions correspondant à la masse m/z 171 pour l'ion MH^+ et m/z 188 ($M+18$) pour l'adduit $[M+NH_4]^+$. Ce résultat nous indique que ce composé a une masse moléculaire de 170g/mol. L'interprétation de la masse expérimentale par le logiciel Mass Center nécessite d'appliquer des contraintes. La plupart des composés volatils organiques naturels retrouvés dans les moûts et les vins sont composés à partir des éléments suivants : H (Hydrogène), C (Carbone), O (Oxygène), N (Azote), S (Soufre). Les composés odorants retrouvés dans les moûts sont plus particulièrement composés des éléments H, C, O, N. Au regard de l'odeur de ce composé et surtout de son spectre de fragmentation, il est peu probable que ce composé soit une pyrazine ou plus généralement un composé azoté. Ainsi, nous limitons l'étude aux composés contenant les éléments suivants : H, C, O.

La formule brute proposée par le logiciel sur la base de la masse exacte du composé (m/z 170,132), calculée à partir de celle de l'ion MH^+ et obtenue par ionisation chimique est : $C_{10}H_{18}O_2$. L'écart entre la masse théorique du composé et celle de la masse expérimentale est de 1,35 mmu (milli-mass unit). Le composé présente deux insaturations.

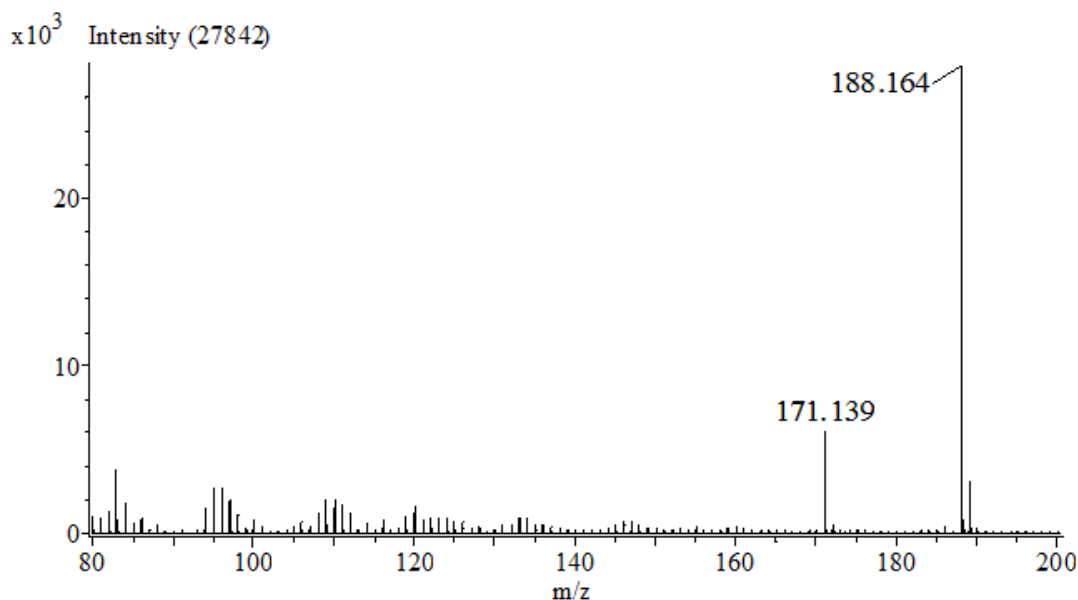


Figure 23 : Spectre de masse (CI, NH_4) du composé C-ZO19

4. Mise en évidence de propriétés optiques particulières

Afin de rechercher la présence de carbones asymétriques, nous avons analysé un échantillon de vin présentant un pic de composé C-ZO19 intense par CPG-bidimensionnelle sur colonne chirale couplée à un analyseur de type TOF (Figure 24). Les conditions opératoires sont décrites dans la Partie 2.I.3.h). Nous avons pu mettre en évidence deux pics chromatographiques P1 à 55,7 min et P2 à 57,5 min espacés de quelques minutes, présentant des spectres de fragmentation identiques en EI. Cette analyse permet de montrer que ce composé possède un centre asymétrique et que ses énantiomères sont présents naturellement dans les échantillons. Aussi, nous montrons que ce composé n'est pas présent sous forme racémique dans les vins ; l'un de ses énantiomères est majoritaire.

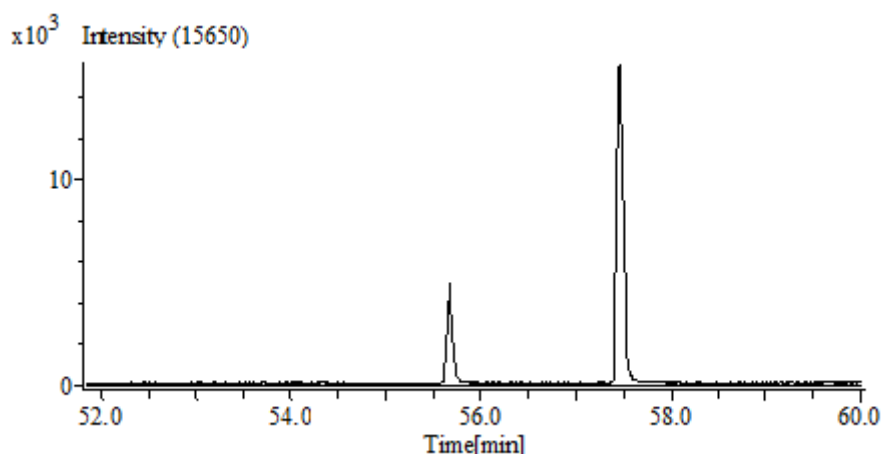


Figure 24 : Séparation des énantiomères du composé C-ZO19 à l'aide d'une colonne chirale par CPG-bidimensionnelle (m/z 99)

5. Tentatives d'identification du C-ZO19 : étude de la fragmentation

a) Hypothèses de travail

L'identification d'un composé par spectrométrie de masse est une opération délicate. En effet, les informations structurales retrouvées dans l'examen de fragments spécifiques dans le spectre de masse du composé étudié ne suffisent pas à remonter à la structure de la molécule. Bien entendu, la RMN est une technique de choix pour réaliser une telle opération, mais elle n'est pas adaptée à la caractérisation de composés volatils présents à faibles concentrations dans un mélange complexe.

Plusieurs éléments peuvent nous guider dans notre travail d'identification. Nous avons vu que les ions de fragmentation majoritaires obtenus par impact électronique sont le m/z 99 et le m/z 71. Nous savons que ces ions de fragmentation majoritaires correspondent à ceux des δ -lactones. Ces ions correspondent à la perte de la chaîne alkyle pour donner l'ion m/z 99 et à la fragmentation du cycle à cinq atomes de carbone pour donner l'espèce de masse m/z 71. C'est pour cette raison que toutes les δ -lactones présentent des spectres de fragmentation très proches.

Nous savons que notre composé présente au moins un carbone asymétrique, tout comme les lactones.

Les expériences d'ionisation par ionisation chimique (NH_4) nous ont révélé que ce composé forme très facilement un adduit avec l'ammoniac. Une expérience similaire a été réalisée avec la γ -nonalactone ; le temps de rétention (colonne polaire BP20) est proche de celui du composé C-ZO19 et présente un comportement identique vis-à-vis de l'ammoniac.

Enfin, l'odeur du composé C-ZO19 est proche de celui des lactones dont l'odeur évoque la noix de coco lorsqu'elles sont concentrées et plutôt des nuances de fruits cuits tels que la pêche cuite lorsqu'elles sont diluées.

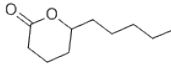
Pour toutes ces raisons, nous avons émis l'hypothèse que ce composé était une lactone de masse 170 g/mol.

Pour la fragmentation de la chaîne alkyle, nous nous sommes inspirés des travaux de Stritzke *et al.* (2004) qui ont permis d'identifier deux nouvelles caprolactones dans des champignons marins.

b) Recherche de candidats potentiels

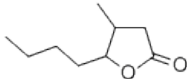
En cherchant à identifier ce composé, nous avons donc, tout d'abord, recherché des composés connus dans le vin de type δ -lactone avec la même masse moléculaire et les mêmes ions de fragmentation majoritaires (Tableau 21). Finalement, un seul composé est répertorié, la δ -décalactone. Malheureusement, elle ne correspond pas au composé C-ZO19 ; elle ne possède pas les mêmes indices linéaires de rétention.

Tableau 21 : Caractéristiques de la δ -décalactone (M = 170 g/mol)

Composé	Descripteurs	IRL	IRL	Structure	Formule brute
		(polaire)	(apolaire)		
δ -décalactone	Pêche, noix de coco	2180	1505		$C_{10}H_{18}O_2$

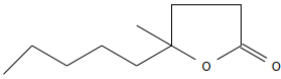
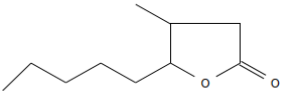
En cherchant un composé de la famille des lactones ayant le même spectre de fragmentation que notre composé, nous avons trouvé la whisky lactone. Elle est représentée dans le Tableau 22. La whisky lactone ou la 3-méthyl-4-octanolide est une lactone du bois présente dans les vins élevés en barrique (Ribéreau-gayon *et al.* 2004). Elle n'a pas les mêmes indices linéaires de rétention ni la même masse moléculaire (M = 150 g/mol). Cependant, cette molécule présente un spectre de fragmentation proche de celui du composé C-ZO19.

Tableau 22 : Caractéristiques de la whisky lactone ou 3-méthyl-4-octanolide

Composé	Descripteurs	IRL	IRL	Structure	Formule brute
		(polaire)	(apolaire)		
Whisky lactone	Noix de coco	1957 (Z)	1134 (Z)		$C_9H_{16}O_2$
		1973 (E)	1332 (Z)		

Sur la base des résultats de la whisky lactone, nous avons recherché des formules brutes du même type que la whisky lactone ayant une masse de 170 g/mol. Nous en avons sélectionné deux ; elles sont présentées dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Lactones décrites dans la nature ayant la même masse moléculaire et spectre de fragmentation proche du composé C-ZO19

N° composé	Structure	Formule brute	Masse moléculaire (g/mol)
1		$C_{10}H_{18}O_2$	170
2		$C_{10}H_{18}O_2$	170

Parmi ces deux γ -lactones répertoriées dans le Tableau 24, seul le composé 2 est commercialisé : il s'agit du methyl tuberate ou 4-methyl-5-pentyl-4,5-dihydro-2(3H)-furanone. C'est une molécule commercialisée par Givaudan, et utilisée dans la parfumerie, les crèmes de beauté ou encore dans les savons (Source : Givaudan). Une solution à 100 μ g/L de methyl tuberate (CH_2Cl_2) a été analysée par CPG-SM afin de déterminer ses indices linéaires de rétention sur colonne polaire. Les IRL des deux diastéréoisomères sont 2002 et 2075. Les IRL ne correspondent pas à ceux du composé C-ZO19. Le spectre de masse obtenu par impact électronique du methyl tuberate est présenté dans la Figure 25. L'ion m/z 171 MH^+ correspond à un phénomène d'auto-protonation propre à l'utilisation de la trappe à ions en mode impact électronique. Par ailleurs, il est à noter qu'aucun pic chromatographique n'a pu être détecté au temps de rétention du méthyl tubérate, validant ainsi son absence des moûts et des vins rouges.

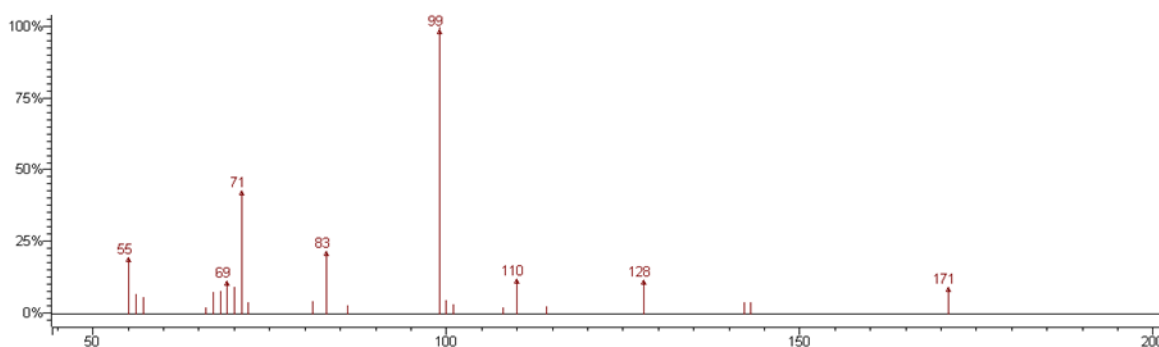


Figure 25 : Spectre de fragmentation (EI, 70 eV) du methyl tuberate en CPG-SM (trappe à ions)

c) Synthèse de composés odorants

Le composé 1 ou 4-methyl-4-nonanolide n'est pas commercialisé. Celui-ci a été obtenu grâce à une collaboration avec le laboratoire du Pr. Landais (ISM, Bordeaux). Cette synthèse a été effectuée par son équipe au sein de son laboratoire et a été validée par RMN. Elle évoque des odeurs de lactone peu intense. Le spectre de fragmentation de ce composé est présenté dans la Figure 26. Ce composé, retrouvé dans des extraits de racine de réglisse (Naf et Jaquier, 2006) a un indice de rétention linéaire de 1963. Dans nos conditions expérimentales, l'indice de rétention linéaire est de 2010. Il ne correspond pas à notre composé C-ZO19. De la même façon

que précédemment, nous montrons que cette lactone n'est pas présente dans les moûts et les vins rouges.

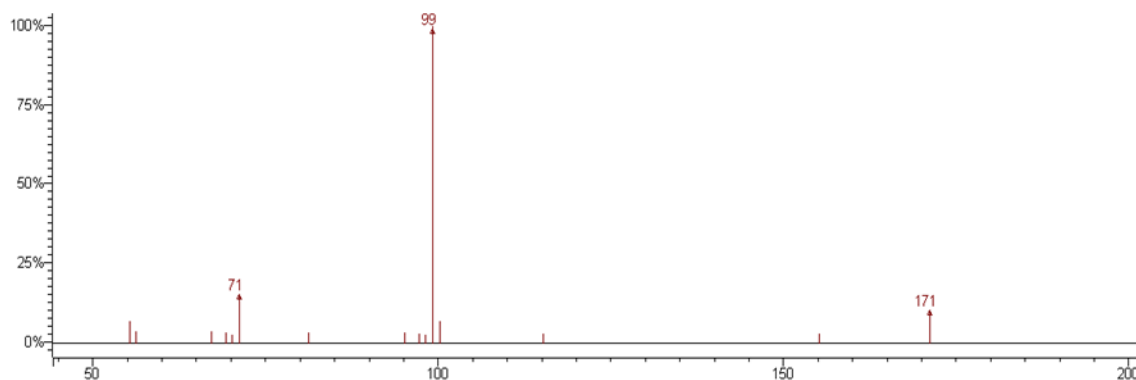
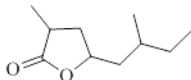
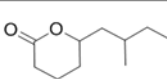
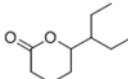
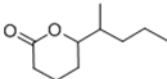
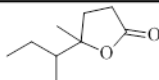


Figure 26 : Spectre de fragmentation (EI, 70eV) du 4-méthyl-4-nonanolide (trappe à ions)

La poursuite de la recherche d'identification de structures du composé C-ZO19 a été réalisée par Mr. Floch, ingénieur chimiste, au sein du laboratoire de l'ISM (Bordeaux) avec la collaboration du Dr. Poix-Shinkaruk.

Plusieurs lactones ont pu être synthétisées et analysées par CPG-SM (Tableau 24). Finalement, aucune structure ne correspond au composé C-ZO19.

Tableau 24 : Exemples de γ et δ -lactones synthétisées au sein de l'ISM (Bordeaux) de masse moléculaire : 170 g/mol

Composés	Structure	Formule brute	IRL
1		$C_{10}H_{18}O_2$	2002
2		$C_{10}H_{18}O_2$	2143
3		$C_{10}H_{18}O_2$	2132
4		$C_{10}H_{18}O_2$	2140
5		$C_{10}H_{18}O_2$	1995

IV. Conclusion

Nous avons mis en évidence que la ZO 19, évoquant des nuances intenses de fruits cuits était spécifiquement retrouvée dans les modalités FC. Malheureusement, elle est associée à un composé dont le spectre de masse ne correspond à aucun composé connu. Aussi, l'analyse semi-quantitative de ce composé, nous révèle que ses teneurs sont significativement plus importantes dans les moûts et les vins marqués par les nuances de fruits cuits que dans les échantillons témoins. Ce résultat nous montre l'importance de déterminer sa structure.

L'utilisation de la CPG-TOF-SM, nous a permis de déterminer sa masse moléculaire, elle est de 170 g/mol et sa formule brute hypothétique est $C_{10}H_{18}O_2$. De plus, l'analyse par CPG-bidimensionnelle avec une colonne chirale a permis de mettre en évidence que ce composé possède au moins un carbone asymétrique. Toutes ces caractéristiques chromatographiques nous ont alors amenées à la recherche d'une lactone. Dans ce travail, nous présentons 7 lactones dont 5 issus de synthèses chimiques réalisées à l'ISM (Bordeaux). Parmi ces lactones, aucune ne correspond au composé C-ZO19.

Nos recherches sur l'identification du composé C-ZO19 n'ont pu aboutir. Cependant, sa présence particulière dans les modalités FC ainsi que son odeur nous ont incités à étudier son comportement tout au long de nos travaux. Dans la suite de cette étude, nous réaliserons donc des analyses « semi-quantitatives » du composé C-ZO19 en faisant le rapport de son aire sur celle de l'étalon interne (3-octanol).

CHAPITRE 4

LES COMPOSES FURANIQUES

I. Etude Bibliographique

1. Le furanéol (ZO2)

Le furanéol ou 2,5-diméthyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone (HDMF) est une furanone dont l'odeur évoque la fraise cuite lorsqu'elle est diluée et le caramel à plus fortes concentrations. Décrit dans de nombreux vins (Tableau 25), il a tout d'abord été identifié par Rapp *et al.* (1980), dans les vins issus de cépages hybrides (non *Vitis Vinifera*) dont l'odeur rappelle nettement des odeurs de fraise cuite. D'ailleurs, aux teneurs retrouvées dans ces vins (pouvant atteindre 1 mg/L), le furanéol contribue de façon importante à cette odeur caractéristique propre à ces vins (Guedes de Pinho et Bertrand, 1995, Ong et Acree, 1999). Plus récemment, les travaux de Kotseridis *et al.* (2000) montrent qu'il est retrouvé dans les vins rouges de Cabernet-Sauvignon et de Merlot et mettent en évidence une corrélation entre l'intensité des nuances de caramel retrouvées dans ces vins et les teneurs en furanéol. Une étude plus récente sur les vins italiens de variété *Vitis Vinifera* (Genovese *et al.*, 2005) a également mis en évidence l'implication du furanéol à l'arôme des vins de Refosco et Primitivo (également connu sous le nom de Zinfandel aux Etats Unis). Il en est de même pour la contribution à l'arôme des vins doux naturels (Cutzach *et al.*, 1999) et des vins liquoreux de pourriture noble (Sarrazin *et al.*, 2007). On le retrouve aussi dans les vins rosés de Grenache (Ferreira *et al.*, 2002).

Tableau 25 : Teneurs en furanéol dans les vins retrouvées dans la littérature

Vins	Cépages	Concentrations	Références
Rouge	Non <i>Vitis Vinifera</i>	1 mg/L	Guedes de Pinho et Bertrand (1995)
Rouge	Cabernet-Sauvignon	20 à 63 µg/L	Kotseridis <i>et al.</i> (2000)
Rouge	Merlot	71 à 156 µg/L	Kotseridis <i>et al.</i> (2000)
Rouge	Refosco et Primitivo	800 à 900 µg/L	Genovese <i>et al.</i> (2005)
VDN rouge		29 à 51 µg/L	Cutzach <i>et al.</i> (1999)
VDN blanc		35 à 623 µg/L	Cutzach <i>et al.</i> (1999)
Vin blanc	Semillon	3 à 25 µg/L	Mayr <i>et al.</i> (2015)
Vin liquoreux	Sauvignon blanc	60 à 185 µg/L	Sarrazin <i>et al.</i> (2007)
Vin rosé	Grenache	36 µg/L	Ferreira <i>et al.</i> (2002)

Des études ont permis de déceler la présence de furanéol dans de nombreux aliments. Il est retrouvé dans beaucoup de fruits comme l'ananas (Rodin *et al.*, 1965), la framboise (Du *et al.*, 2010), la tomate (Buttery *et al.*, 2001), le kiwi (Garcia *et al.*, 2011) ou encore le litchi (Ong et Acree, 1999). De plus, il figure parmi les composés d'impact contribuant à l'arôme des fraises (Ohloff, 1969) avec des concentrations comprises entre 1163 et 4852 µg/kg (Chen *et al.*, 2011). En dépit de sa nature chirale, ce composé est présent dans les fruits en mélange racémique, en raison d'une cinétique de racémisation rapide impliquant plusieurs formes tautomères intermédiaires (Bruche *et al.*, 1991). Le furanéol est aussi présent dans les aliments traités thermiquement comme le bouillon de bœuf (Tonsbeek *et al.*, 1968), le café torréfié (Schieberle, 1990), le rôti de bœuf cuit (Cerny et Grosch, 1992), les graines de sésame grillées (Schieberle, 1993) et le « ragoût » de bœuf (Guth et Grosch, 1993).

Au regard de sa distribution dans le règne végétal et sa présence dans de nombreux aliments, les voies de formation décrites dans la littérature diffèrent selon le produit. Par exemple, dans la fraise, il est formé par la libération des précurseurs glycosylés, tel que le D-Fructose-1,6-diphosphate, grâce à l'intervention d'une enzyme pectolitique avec activité β-glucosidique (Roscher *et al.*, 1996). De la même façon, Guedes de Pinho et Bertrand (1995) ont mis en

évidence la formation de furanéol dans les moûts et les vins acidifiés (pH 2) sous l'action d'une activité enzymatique de type β -glucosidase, laissant présager l'existence de formes précurseurs de type glycosylées. L'autre voie de formation nécessite l'application de température élevée (90°C) impliquant les réactions de Maillard (Hodge *et al.*, 1963) entre un pentose et un acide aminé tel que le xylose et la glycine (Blank *et al.*, 1997), ou encore entre le rhamnose et l'arginine (Haleva-Toledo *et al.*, 1997). Plus récemment, Wang et Ho (2008) ont mis en évidence, en conditions de laboratoire (tampon phosphate 0,5 M, 1 heure à 120°C), que le méthyl glyoxal pourrait être un intermédiaire des réactions de Maillard impliquant le glucose et la glycine et pourrait figurer ainsi comme précurseur du furanéol.

Les seuils de perception du furanéol retrouvés dans la littérature (Tableau 26) sont très variés. En effet, on observe qu'en solution hydro alcoolique à 10% vol. le seuil de perception va de 5 $\mu\text{g/L}$ à pH 3,2 jusqu'à 37 $\mu\text{g/L}$ pH 3,5 en solution à 11% vol. En solution hydro alcoolique à 12% vol. et pH 3,5, le seuil est de 70 $\mu\text{g/L}$. Ces grandes disparités de seuils de perception déterminés à différents pH et différents degrés volumiques nous ont amenés par la suite, à réaliser les seuils de perception au laboratoire.

Tableau 26 : Seuils de perception du furanéol en solution hydro alcoolique retrouvés dans la littérature

Auteurs	Matrice	pH	Seuils de perception ($\mu\text{g/L}$)
Kotseridis <i>et al.</i> , 2000	solution hydroalcoolique (11% vol.)	pH 3,5	37
Ferreira <i>et al.</i> , 2002	solution hydroalcoolique (10% vol.)	pH 3,2	5
Sarrazin, 2007	solution hydroalcoolique (12% vol.)	pH 3,5	70

2. L'homofuranéol (ZO3)

L'homofuranéol est un composé correspondant à l'équilibre céto-enolique de deux structures 5-ethyl-4-hydroxy-2-methylfuran-3(2H)-one et 2-ethyl-4-hydroxy-5-methylfuran-3(2H)-one. Evoquant le sucre cuit tout comme le furanéol, il peut contribuer à l'arôme des vins rouges de Cabernet-Sauvignon et de Merlot (Kotseridis *et al.*, 2000), des vins rosés de Grenache (Ferreira *et al.*, 2002), des vins doux naturels (Cutzach *et al.*, 1999) et des vins liquoreux de pourriture noble (Sarrazin *et al.*, 2007). Les teneurs en homofuranéol retrouvées dans les vins

sont présentées dans le Tableau 27. Il a aussi été identifié dans de nombreux aliments tels que la sauce soja (Numomura *et al.*, 1976), le café torréfié (Tressl *et al.*, 1978), le melon (Huber, 1992), une plante de montagne nommée « livèche » évoquant de fortes odeurs de céleri (Blank et Schieberle, 1993) ou encore l'emmental (Preininger *et al.*, 1994).

Tableau 27 : Teneurs en homofuranéol dans les vins retrouvées dans la littérature

Vins	Cépages	Concentrations	Références
Rouge	Cabernet-Sauvignon	25 à 50 µg/L	Kotseridis <i>et al.</i> (2000)
Rouge	Merlot	35 à 75 µg/L	Kotseridis <i>et al.</i> (2000)
VDN rouge		5 µg/L	Cutzach <i>et al.</i> (1999)
VDN blanc		9 µg/L	Cutzach <i>et al.</i> (1999)
Vin blanc	Semillon	4 à 212 µg/L	Mayr <i>et al.</i> (2015)
Vin liquoreux	Sauvignon blanc	8 à 324 µg/L	Sarrazin <i>et al.</i> (2007)
Vin rosé	Grenache	78 µg/L	Ferreira <i>et al.</i> (2002)

L'homofuraneol est issu des réactions de Maillard (Blank *et al.*, 1997) impliquant un pentose (xylose) et un acide aminé (alanine). Tout comme pour le furanéol, les seuils de perception retrouvés dans la littérature sont très variés (Tableau 28). A pH 3,2 (10% vol.), le seuil est de 125 µg/L tandis qu'à pH 3,5 il oscille entre 10 et 40 µg/L (11% vol. et 12% vol.). Ces variations de seuils de perception nous ont conduits par la suite, comme pour le furanéol, à déterminer les seuils de perception de l'homofuranéol.

Tableau 28 : Seuils de perception de l'homofuranéol en solution hydro alcoolique retrouvés dans la littérature

Auteurs	Matrice	pH	Seuils de perception (µg/L)
Kotseridis <i>et al.</i> , 2000	solution hydroalcoolique (11% vol.)	pH 3,5	10
Ferreira <i>et al.</i> , 2002	solution hydroalcoolique (10% vol.)	pH 3,2	125
Sarrazin, 2007	solution hydroalcoolique (12% vol.)	pH 3,5	40

II. Optimisation des conditions d'analyses du furanéol et de l'homofuranéol en CPG-SM

1. Le dosage du furanéol et de l'homofuranéol

Le dosage des furanones, a été réalisé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Parmi les propriétés physico-chimiques de ces composés, leur thermolabilité est un des critères conditionnant la sensibilité et la répétabilité de la mesure en CPG-SM. Les travaux de Pons (2006) sur le sotolon avaient permis de mettre en évidence la thermosensibilité de ces composés.

Les méthodes de dosage utilisant leur équivalent deutéré (méthode SIDA : Stable Isotope Dilution Assays) comme étalon interne sont les plus sensibles et offrent une meilleure répétabilité (Blank *et al.*, 1997). Cependant, la synthèse de cet analogue peut parfois s'avérer délicate et rend fastidieuse la préparation de l'échantillon et son dosage. C'est pour cette raison que, sur la base des travaux de Sarrazin (2007), nous avons choisi l'éthyl maltol comme étalon interne. Il est absent des moûts et des vins étudiés et sa structure chimique de type pyrone est proche des molécules odorantes étudiées.

La séparation de l'homofuranéol et du furanéol ainsi que leurs quantifications sont réalisées par CPG-SM sur colonne polaire selon la méthode décrite dans la Partie 2.I.3.d), et inspirée des travaux de Blank *et al.* (1997), Kotseridis *et al.* (2000) et Ferreira *et al.* (2003). Les ions (m/z) sélectionnés pour la détermination de la surface des pics chromatographiques correspondent aux ions moléculaires M^+ des composés étudiés.

Afin d'optimiser leur quantification, nous avons réalisé des tests sur l'incidence de la température de l'injecteur du chromatographe et la température de la source du spectromètre de masse sur le furanéol, l'homofuranéol et l'éthyl maltol.

2. Optimisation des paramètres de température d'injection

Pour chaque test, les composés en mélange (dans du dichlorométhane) ont été injectés 8 fois à l'aide du passeur automatique AI/AS 3000 (Thermo Scientific, Illkirch, France) afin de valider la réponse des composés aux différentes températures d'injecteur et de source testées. Nous

avons fait varier la température de l'injecteur PTV de 70°C à 230°C (Figure 27). Les températures testées sont : 70°C, 100°C, 130°C, 150°C, 180°C, 200°C et 230°C (pendant 1,2 minutes, programmation température : 14,5°C/sec jusqu'à 230°C, temps de fermeture : 60 s, débit de purge : 50 mL/min).

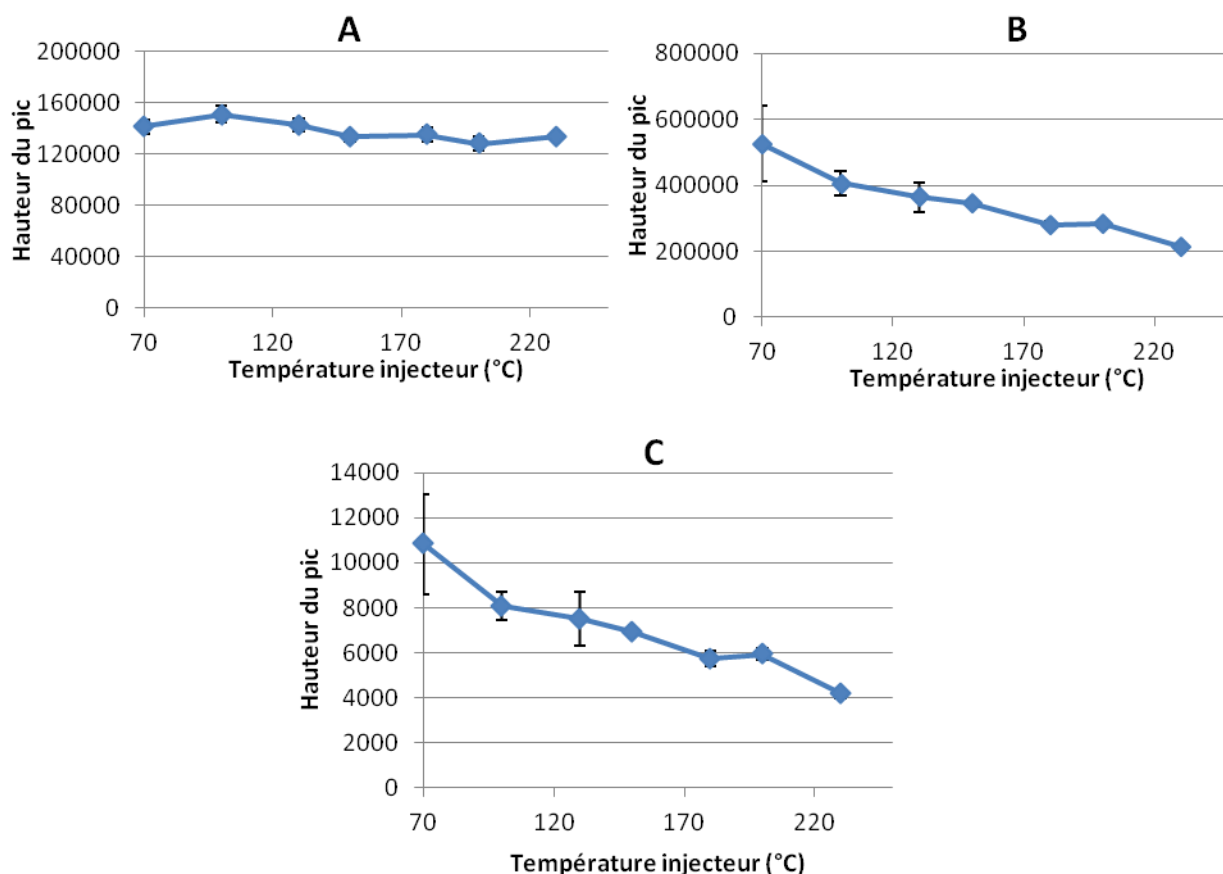


Figure 27 : Incidence des variations de température de l'injecteur sur l'intensité du signal en mode SIM. Les ions utilisés pour la quantification (m/z) sont : Furanéol (A) : 128, Homofuranéol (B) : 142, Ethyl maltol (C) : 140. Température source : 200°C - n=8

Nous observons que l'intensité du signal de chaque molécule diminue avec l'augmentation de la température, de 10 à 60 % selon le composé étudié. Dans nos conditions expérimentales, l'intensité du signal du furanéol est peu affectée par l'augmentation de la température de l'injecteur à l'inverse de l'éthyl maltol. On observe également que les écarts types associés à l'erreur de la mesure sont plus importants pour les températures les plus basses (70°C, 100°C, 130°C). A l'inverse, à partir de 150°C la répétabilité de l'injection devient beaucoup plus faible. Nous avons donc choisi pour nos dosages une température de l'injecteur de 150°C.

3. Optimisation des paramètres de spectrométrie de masse

La température de la source est un paramètre important lors de l'analyse des composés volatils en spectrométrie de masse. Ainsi, la température doit être élevée pour faciliter la fragmentation des composés lors de l'ionisation en impact électronique, sans être trop basse pour limiter son encrassement. Le constructeur recommande, pour une ionisation en impact électronique, une température optimale de fonctionnement de la source comprise entre 210 °C et 250°C. Ainsi, nous avons étudié l'effet de la température de la source sur l'intensité du signal des furanones et de l'éthyl maltol sur une gamme de températures comprise entre 150 et 230°C (Figure 28). La température de l'injecteur est fixée à 150°C.

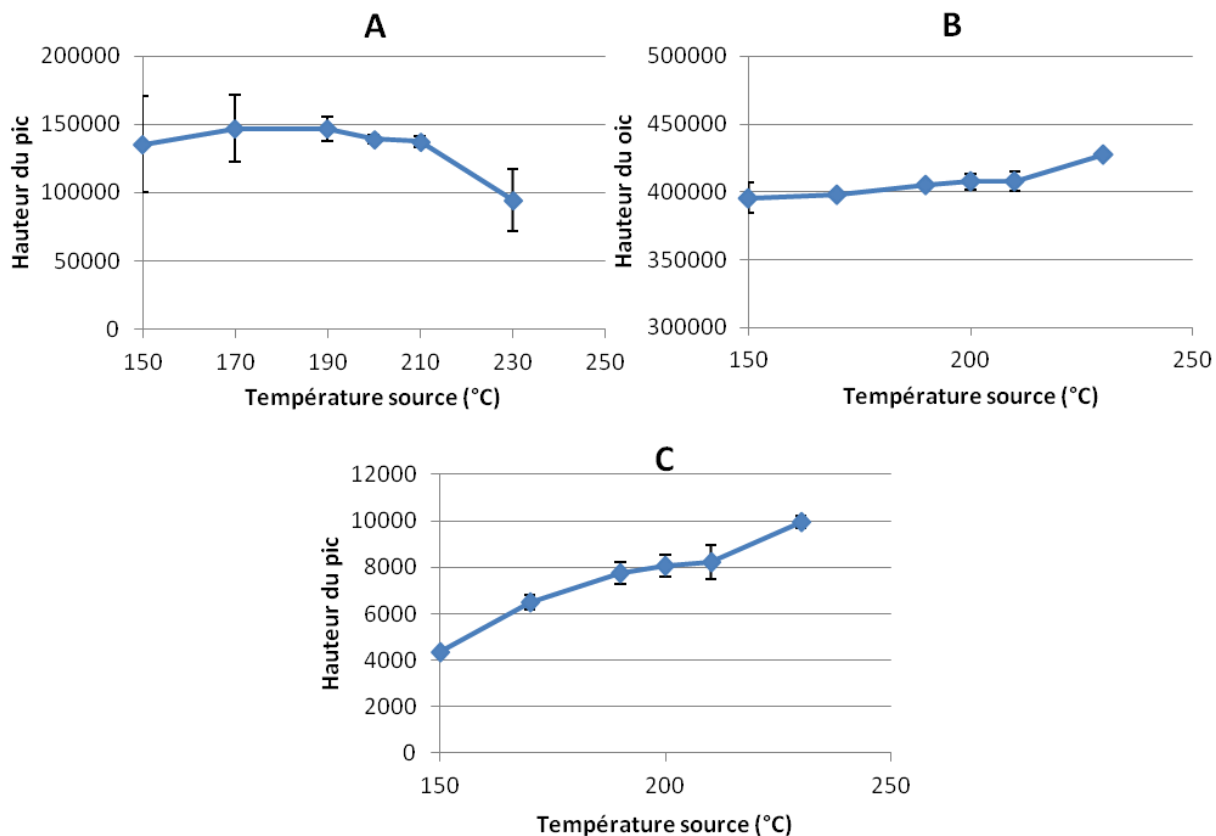


Figure 28 : Incidence des variations de température de la source d'ionisation sur l'intensité du signal en mode SIM. Les ions utilisés pour la quantification (m/z) sont : Furanéol (A) : 128, Homofuranéol (B) : 142, Ethyl maltol (C) : 140 - n=8 - T_{inj} 150°C

Nous montrons qu'une augmentation de la température de la source provoque une diminution de l'intensité du pic de furaneol de 30% à 230°C. Celle-ci peut s'expliquer par le caractère

thermosensible de cette molécule et également par une fragmentation plus importante de l'ion M^+ à plus haute température. A l'inverse, pour l'homofuranéol et l'éthyl maltol, nous observons une augmentation de 30 à 130% de l'intensité du signal avec l'augmentation de la température de la source. Aussi, afin de maximiser le signal des furanones tout en limitant la dégradation du furanéol, nous avons choisi d'utiliser une température de la source de 210°C.

4. Courbes de calibration

Afin de doser ces deux furanones, des gammes étalons ont été préparées en supplémentant à 100 mL de moût ou de vin des concentrations croissantes de furanéol et d'homofuranéol allant de 0 à 240 µg/L et de 0 à 64 µg/L respectivement.

Une courbe étalon est ensuite construite sur la base d'une corrélation linéaire entre les concentrations et le rapport de l'aire du pic d'intérêt sur celle de l'étalon interne. Les caractéristiques de la méthode de dosage du furanéol et de l'homofuranéol dans le moût et le vin sont résumées dans le Tableau 29. Ce tableau précise les limites de quantification de chaque composé correspondant à la concentration minimale générant un signal dix fois supérieur à celui du bruit de fond.

Tableau 29 : Paramètres analytiques de la quantification du furanéol et de l'homofuranéol dans les moûts et les vins rouges.

Composé	Matrice	Répétabilité	Courbe de calibration	R ²	Gamme de linéarité (µg/L)
Furanéol	MOÛT	7%	$y=401,26x+4,49$	0,995	1-240
	VIN	7%	$y=203,02x-4,63$	0,997	1-240
Homofuranéol	MOÛT	7%	$y=201,04x+1,93$	0,995	1,5-64
	VIN	7%	$y=286,41x-1,63$	0,992	1,5-64

L'ensemble de ces résultats valide donc la méthode de quantification des furanones avec l'utilisation de l'éthyl maltol comme étalon interne. En conséquence, il nous est possible de l'appliquer pour quantifier ces composés dans les moûts et les vins rouges.

III. Etudes sensorielles sur le furanéol et l'homofuranéol

1. Seuils de perception du furanéol et de l'homofuranéol

L'appréciation de l'impact d'un composé odorant sur l'arôme global d'un vin nécessite la connaissance de sa concentration mais également de son seuil de perception. Les grandes disparités de seuils de perception retrouvés dans la littérature (Tableaux 26 et 28) nous ont amenés à repreciser ces seuils de perception au laboratoire en solutions hydro alcooliques. Nous avons également porté notre attention sur l'effet du pH sur ce paramètre. En effet, le pKa du furanéol étant de 8,56 à 20°C (Chen *et al.*, 2011) il n'est pas exclu qu'une variation du pH puisse modifier son équilibre et par conséquent son seuil de perception.

Des tests sensoriels ont été réalisés par un panel de dégustateurs (18 juges) de l'Unité de recherche Œnologie, ISVV, afin de déterminer les seuils de perception olfactive du furanéol et de l'homofuranéol. Les seuils de perception des deux composés sont déterminés selon le protocole décrit dans la partie « matériel et méthodes ». Les résultats de l'analyse sensorielle sont résumés dans le Tableau 30.

Tableau 30 : Seuils de perception du furanéol et de l'homofuranéol dans un milieu synthétique de moût (MS) à pH 3,5, dans un milieu modèle vin (VS) à pH 3,5 et à pH 4

Composé	Seuils de perception (µg/L)		
	MS	VS	
		pH 3.5	pH 4
Furanéol	10,5	49	46
Homofuranéol	5,5	26,5	14,5

Les résultats indiquent un seuil de perception olfactive à 10,5 µg/L et à 5,5 µg/L dans un milieu synthétique de moût pour le furanéol et l'homofuranéol respectivement.

En solution hydro alcoolique, les seuils de perception du furanéol oscillent entre 46 et 49 µg/L en fonction du pH. Ces résultats montrent qu'il n'existe pas d'effet pH sur le seuil de perception du furanéol en solution hydro alcoolique.

Le seuil de perception de l'homofuranéol en solution hydro alcoolique est diminué de 45% de pH 3,5 à pH 4 ; on observe un effet du pH pour le seuil de perception de ce composé en solution hydro alcoolique.

2. Effet d'additivité de l'homofuranéol sur le furanéol

Le furanéol et l'homofuranéol appartiennent à la famille des furanones et présentent des structures chimiques et des odeurs très proches. Aussi, il est probable dans de telles circonstances que ces composés, lorsqu'ils sont en mélange, puissent concourir au développement de nuances aromatiques proches dans les vins. Sur la base de ces hypothèses, Ferreira *et al.* (2002) ont pu montrer, par l'application de tests d'omission, l'existence d'une action synergique entre le furanéol et l'homofuranéol. Lorsque le furanéol et l'homofuranéol sont retirés simultanément d'une solution hydro alcoolique, l'arôme est modifié par une nette diminution du caractère fruité et caramel ; cependant, lorsque seulement un des deux composés est retiré, l'effet sensoriel est trop faible pour être perçu. Nous inspirant de ce travail, nous avons réalisé des essais sur l'effet de la présence d'homofuranéol à des concentrations infraliminaires sur le seuil de perception du furanéol.

A un milieu modèle de composition proche du vin (solution hydroalcoolique ajusté à pH 3,5), 10 µg/L d'homofuranéol ont été supplémentés. Ensuite, nous avons réalisé les tests sensoriels selon le même protocole que pour la détermination du seuil de perception du furanéol dans une solution hydroalcoolique ajustée à pH 3,5. Les résultats sont présentés dans le Tableau 31.

Tableau 31 : Seuils de perception du furanéol dans un milieu modèle vin (VS) à pH 3,5 supplémenté ou non avec 10 µg/L d'homofuranéol

Composé	Seuils de perception olfactive (µg/L)	
	VS	VS + 10 µg/L homofuranéol
Furanéol	49	38

Les résultats montrent que l'ajout de 10 µg/L d'homofuranéol dans la solution hydro alcoolique suffit à diminuer le seuil de perception olfactive du furanéol d'environ 10 µg/L. Nous montrons ainsi qu'il existe bien un effet d'additivité entre ces deux furanones.

IV. Dosages dans les moûts et les vins rouges

Après avoir identifié précédemment le furanéol et l'homofuranéol dans les moûts et les vins marqués par les nuances de fruits cuits par CPG-O-SM et optimisé leur méthode de dosage, nous avons réalisé des analyses quantitatives de ces deux composés par CPG-SM. L'échantillonnage est composé de 9 moûts (4 moûts témoins n'évoquant pas de nuances de fruits cuits et 5 moûts présentant ces nuances) et 18 vins (8 vins témoins et 10 vins évoquant les nuances de fruits cuits) (Tableau 32). Tous les échantillons sont issus des cépages Merlot et Cabernet-Sauvignon.

Tableau 32 : Echantillonnage des moûts et des vins pour les analyses quantitatives

MOÛTS	Cépage	Appellation	Millésime	Evoquant des nuances de FC
1	Merlot	Pessac-Léognan	2011	NON
2	Merlot	Pessac-Léognan	2012	NON
3	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2011	NON
4	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2012	NON
5	Merlot	Pessac-Léognan	2011	OUI
6	Merlot	Pessac-Léognan	2012	OUI
7	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2011	OUI
8	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2012	OUI
9	Merlot	Pessac-Léognan	2012	OUI
VINS	Cépage	Appellation	Millésime	Evoquant des nuances de FC
1	Merlot	Pessac-Léognan	2011	NON
2	Merlot	Pessac-Léognan	2012	NON
3	Merlot	Pessac-Léognan	2013	NON
4	Merlot	Pauillac	2012	NON
5	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2011	NON
6	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2012	NON
7	Cabernet-Sauvignon	Pauillac	2012	NON
8	Cabernet-Sauvignon	Pauillac	2014	NON
9	Merlot	Pessac-Léognan	2013	OUI
10	Merlot	Pauillac	2012	OUI
11	Merlot	Saint-Emilion	2012	OUI
12	Merlot	Saint-Emilion	2012	OUI
13	Merlot	Pauillac	2010	OUI
14	Merlot	Pomerol	2010	OUI
15	Merlot	Saint-Emilion	2010	OUI
16	Merlot	Saint-Emilion	2010	OUI
17	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2011	OUI
18	Cabernet-Sauvignon	Saint-Julien	2012	OUI

Les résultats de l'analyse quantitative du furanéol sont présentés dans la Figure 29 sous forme de boîtes de dispersion. Le traitement statistique (ANOVA) des résultats montre qu'il existe des différences significatives entre les moûts témoin (en moyenne 2,5 µg/L) et les moûts FC (en moyenne 14 µg/L). Aussi, les teneurs retrouvées dans la modalité FC sont supérieures au seuil de perception olfactif d'un milieu synthétique de moût. Dans les vins, les teneurs sont significativement plus importantes dans les vins évoquant les odeurs de fruits cuits. Les teneurs moyennes des vins FC sont de 160 µg/L, soit largement supérieures au seuil de perception dans un milieu modèle de vin (49 µg/L). Le furanéol participe donc directement à l'arôme des moûts et des vins marqués par les nuances de fruits cuits. On montre que les moûts évoquant des nuances de fruits cuits produisent des vins avec plus de furanéol. Ainsi, les précurseurs du furanéol présents dans les raisins, sont libérés au cours du métabolisme levurien. La connaissance de la voie de biosynthèse de ses précurseurs devient alors nécessaire.

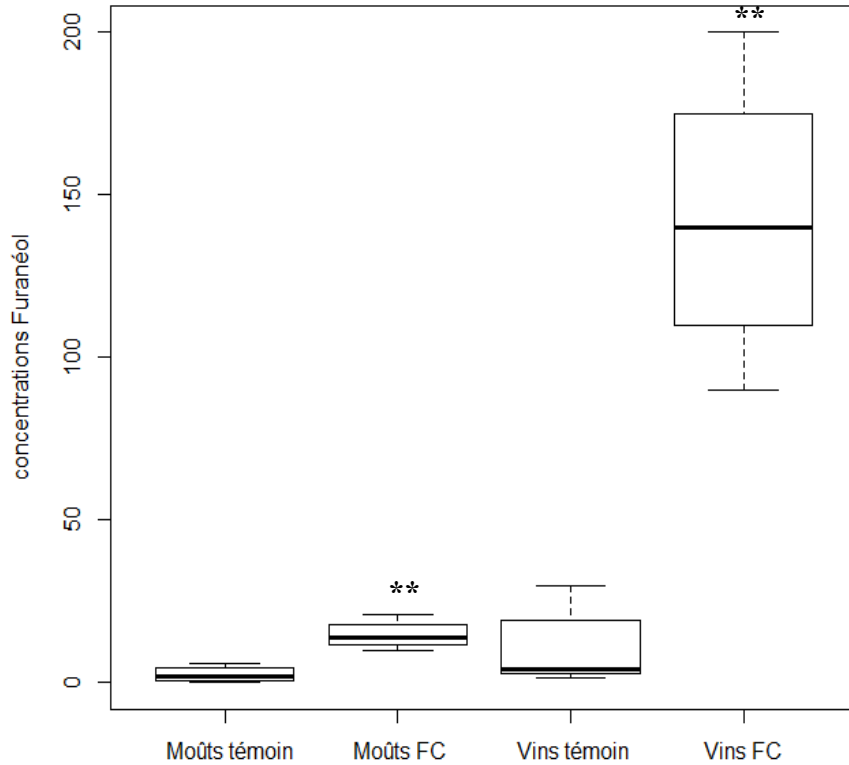


Figure 29 : Comparaison de la distribution des teneurs en furanéol des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (Représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

**** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)**

Les analyses statistiques des analyses quantitatives de l'homofuranéol (Figure 30) indiquent, comme pour le furanéol, qu'il existe des différences significatives dans les moûts. Les teneurs retrouvées dans la modalité FC sont supérieures au seuil de perception dans un milieu de moût ($5,5 \mu\text{g/L}$). Dans les vins, il existe des différences significatives entre le témoin et le FC. Bien que les concentrations retrouvées dans les vins FC soient inférieures au seuil de perception et comme nous l'avons montré précédemment par des effets de synergie, les teneurs moyennes retrouvées ($> 10 \mu\text{g/L}$) peuvent contribuer à la diminution du seuil de perception du furanéol. L'homofuranéol dans les moûts et les vins FC participe alors à leur expression aromatique. Comme pour le furanéol, la présence de teneurs supérieures au seuil de perception dans les moûts indique que les teneurs dans les vins seront systématiquement plus importantes que celles retrouvées dans des vins issus de raisins non marqués par les nuances de fruits cuits. La connaissance des précurseurs de l'homofuranéol devient alors nécessaire.

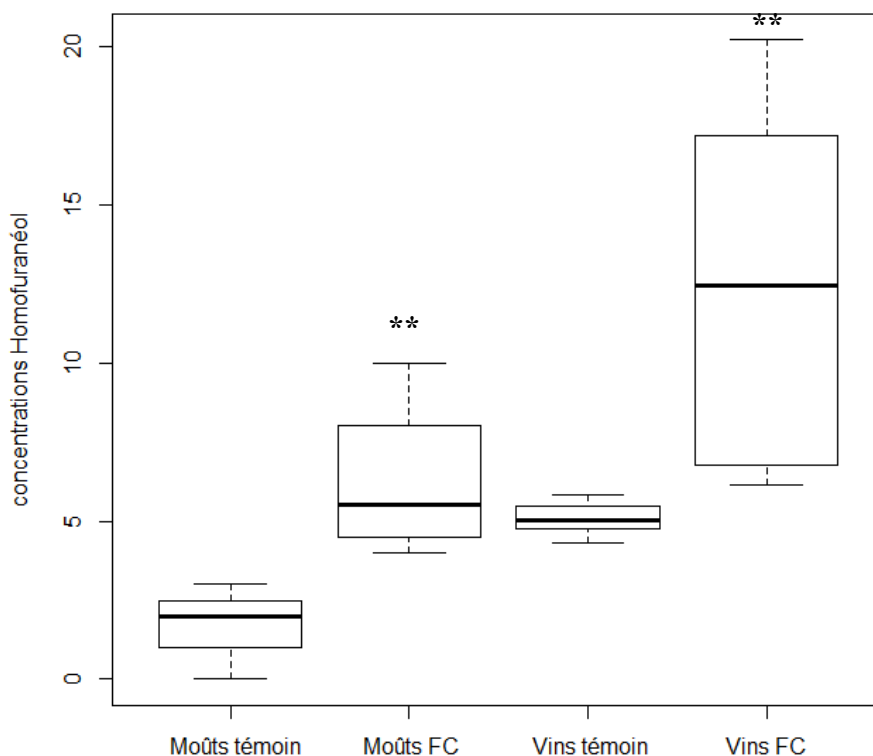


Figure 30 : Comparaison de la distribution des teneurs en homofuranéol des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (Représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

**** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)**

Ces analyses quantitatives montrent des différences significatives dans les vins marqués par les odeurs de fruits cuits et confirment l'intérêt de poursuivre leurs dosages dans les expérimentations mais aussi de connaître leur voie de biosynthèse au cours de la maturation dans les baies de raisins.

V. Recherche d'une voie de formation du furanéol et de l'homofuranéol dans les moûts

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les voies de formation hypothétiques des furanones décrites dans la littérature sont les réactions de Maillard. Les travaux de Blank *et al.* (1997) reportent qu'un tampon phosphate à pH 6, supplémenté par du xylose et de la glycine, puis maintenu à 90°C pendant 1 heure entraînerait la formation de furanéol. Ces travaux ont aussi montré que, dans ce même tampon phosphate chauffé pendant une heure, les réactions de Maillard entre le rhamnose et l'alanine permettaient la formation d'homofuranéol. D'autre part,

des réactions de Maillard entre le rhamnose et l'arginine présents naturellement dans le jus de citron pourraient aussi être l'origine de la formation de furanéol (Haleva-Toledo *et al.*, 1997).

1. Incidence de la température sur la formation du furanéol et de l'homofuranéol dans un moût

a) Protocole expérimental

Nous avons réalisé un essai en chauffant un moût témoin de Merlot de l'appellation Pessac-Léognan. Le moût sélectionné, non marqué à la dégustation par les nuances de fruits cuits, a préalablement été filtré stérilement sur une membrane de 45µm pour éviter tout développement de micro-organismes et notamment de levures durant l'expérience. Pour cela, 120mL de moût exempt de furanones sont versés dans des bouteilles en verre ambré de 125mL. Les bouteilles sont fermées et placées dans une étuve mis à 80°C. Les bouteilles sont sorties de l'étuve après 7 et 13 jours. Les échantillons témoin, + 7 jours et + 13 jours sont ensuite flairés par trois personnes du laboratoire et extraits pour l'analyse quantitative des furanones (furanéol + homofuranéol). Nous avons choisi la température de 80°C pour accentuer au maximum le phénomène lié à la température. L'application d'une telle température doit reproduire en peu de temps le stress thermique que peut subir un raisin lorsqu'il est exposé à des températures estivales élevées (35°C - 40°C) pendant une longue période.

b) Résultats

Après 7 jours et 13 jours passés dans l'étuve, des analyses quantitatives des furanones ont été réalisées (Figure 31). On observe des teneurs en furanéol et en homofuranéol croissantes au cours du temps passé dans l'étuve à 80°C. Au bout de 13 jours, les teneurs en furanéol se rapprochent de 60 µg/L (concentrations largement supérieures au seuil de perception dans les moûts : Sp=10,5 µg/L) ; les concentrations d'homofuranéol sont quant à elles inférieures au seuil de perception (Sp=5,5 µg/L).

L'analyse sensorielle des trois moûts (Témoin, +7jours, +13jours), réalisée par trois personnes expérimentées du laboratoire, permet de distinguer les échantillons entre eux avec des odeurs

de caramel plus intenses dans le moût chauffé durant 13 jours ; le moût témoin est exempt de ces odeurs (résultats non présentés).

Au final, bien que les mécanismes chimiques voire biochimiques à l'origine de la formation de ces furanones dans les moûts soient à ce jour inconnus, nous montrons que la température est un critère important conditionnant leur formation dans un moût naturel.

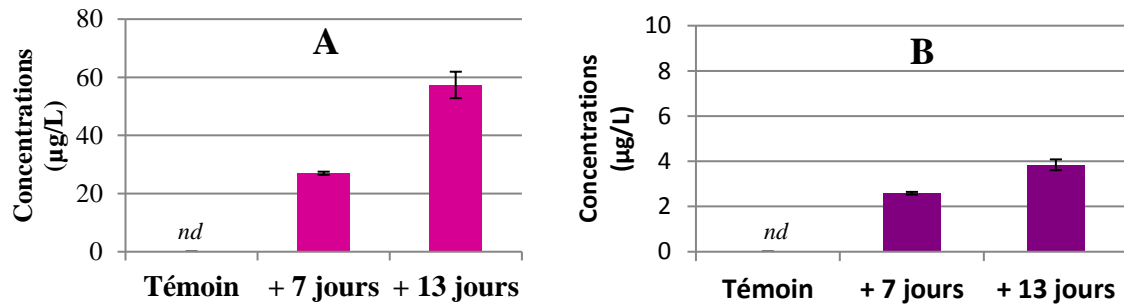


Figure 31 : Evolution des teneurs en furanéol (A) et en homofuranéol (B) dans un moût de Merlot placé dans une étude à 80°C au cours du temps. n=2 - nd : non détecté

2. Recherche des précurseurs à l'origine de la formation du furanéol et de l'homofuranéol dans les moûts

a) *Protocole expérimental*

Sur la base des travaux retrouvés dans la littérature mettant en évidence la formation de furanéol et d'homofuranéol dans des conditions de réactions de Maillard, des essais ont été réalisés. Dans deux milieux modèle de moût composés de 220 g/L de glucose et de fructose, de 5 g/L d'acide tartrique et ajustés à pH 3,5 ou pH 4 (NaOH 5 M), des ajouts de rhamnose (150 mg/L), xylose (150 mg/L), glycine (30 mg/L) et alanine (30 mg/L) ont été réalisés. Ces essais ont été réalisés en dupliqua. Après 13 jours de chauffage à 80°C dans l'obscurité et à l'abri de l'oxygène, les échantillons sont sortis de l'étuve et flairés, par trois personnes du laboratoire, dans des verres transparents avant d'être extraits pour le dosage des furanones.

b) Résultats

Dans un premier temps nous avons réalisé l'analyse sensorielle de l'ensemble des échantillons (réalisée par trois personnes expérimentées du laboratoire). Nous n'avons pas pu discriminer les échantillons entre eux ; ils présentaient tous un mélange d'odeurs rappelant le sucre cuit voire le caramel. Les résultats des dosages du furanéol ainsi que de l'homofuranéol sont présentés dans les Figures 32 et 33.

Leur analyse montre qu'à pH 3,5 comme à pH 4, les teneurs en furanéol ne varient presque pas entre les modalités des différents ajouts et sont similaires au témoin (T). En revanche, quelles que soient les modalités, on observe une augmentation significative des concentrations en furanones entre pH 3,5 et pH 4 (environ 50% en plus à pH 4). Ce résultat n'est pas surprenant puisqu'il est acquis que le pH influe fortement sur la formation des composés issus des réactions de Maillard. Toutefois, cette expérience permet de préciser que dans la gamme de pH des moûts, des variations de pH peuvent modifier fortement sa composition lorsqu'il est conservé à des températures élevées. Aussi, nous montrons que le milieu modèle acidifié et chauffé, composé de glucose et de fructose permet la formation de furanéol en quantités non négligeables.

Les concentrations d'homofuranéol retrouvées dans les échantillons sont faibles, inférieures à 4 $\mu\text{g/L}$, et similaires au témoin (T). On met en évidence qu'à pH 3,5, la condition optimale pour la formation de ce composé est l'ajout de xylose et d'alanine. Contrairement au furanéol, la formation d'homofuranéol n'est pas favorisée à pH 4 et les variations entre les modalités ne sont pas les mêmes entre les deux pH. A pH 3,5, il semblerait que la modalité comportant seulement du xylose favorise sa formation.

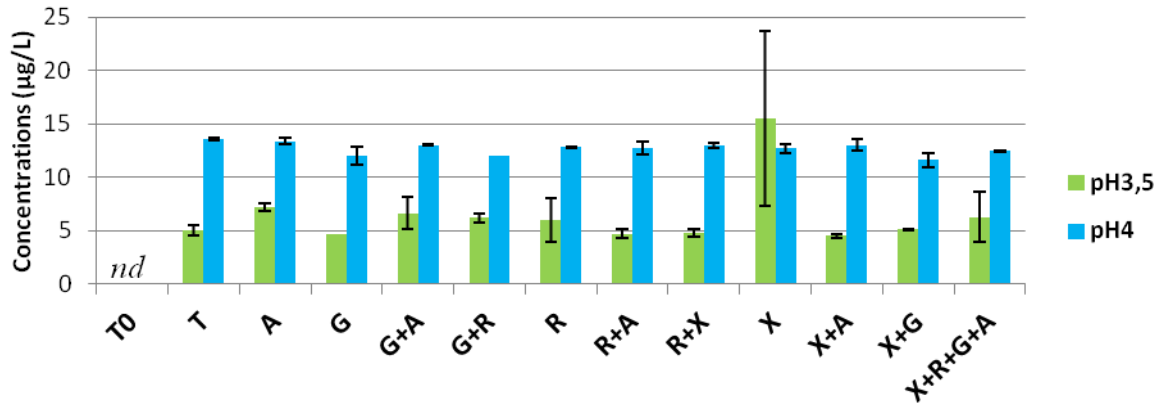


Figure 32 : Teneurs en furanéol dans les môts modèles après chauffage à 80°C pendant 13 jours (T0=témoin non chauffé ; T=témoin ; X=xylose ; R=rhamnose ; G=glycine ; A=alanine). nd : non détecté. n=2

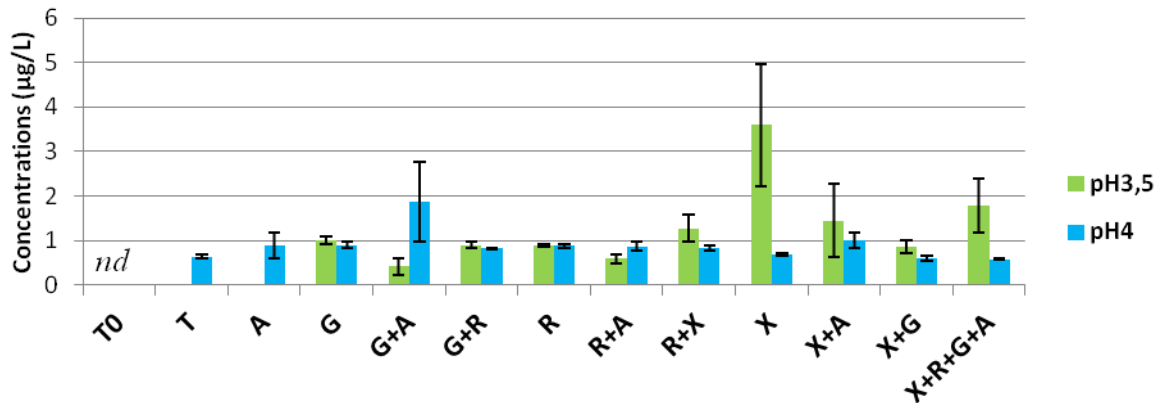


Figure 33 : Teneurs en homofuranéol dans les môts modèles après chauffage à 80°C pendant 13 jours (T0 = témoin non chauffé ; T=témoin ; X=xylose ; R=rhamnose ; G=glycine ; A=alanine). nd : non détecté. n=2

VI. Incidence du dioxyde de soufre (SO₂) sur les teneurs en furanéol dans les môts et les vins

Les tests réalisés pour étudier l'incidence du sulfitage sur les teneurs en furanéol ont été réalisés dans deux milieux : un milieu modèle de môût et un milieu modèle de vin. Le protocole est détaillé dans la Partie 2.II.

Les résultats des dosages des échantillons après 7 jours passés à température ambiante dans l'obscurité sont présentés dans la Figure 34. On met en évidence que la présence de SO₂ diminue de 40% dans le milieu modèle de môût et de 13% dans le milieu modèle de vin la

teneur en furanéol. Le SO_2 se combine au furanéol ; la combinaison est favorisée dans un milieu modèle de moût.

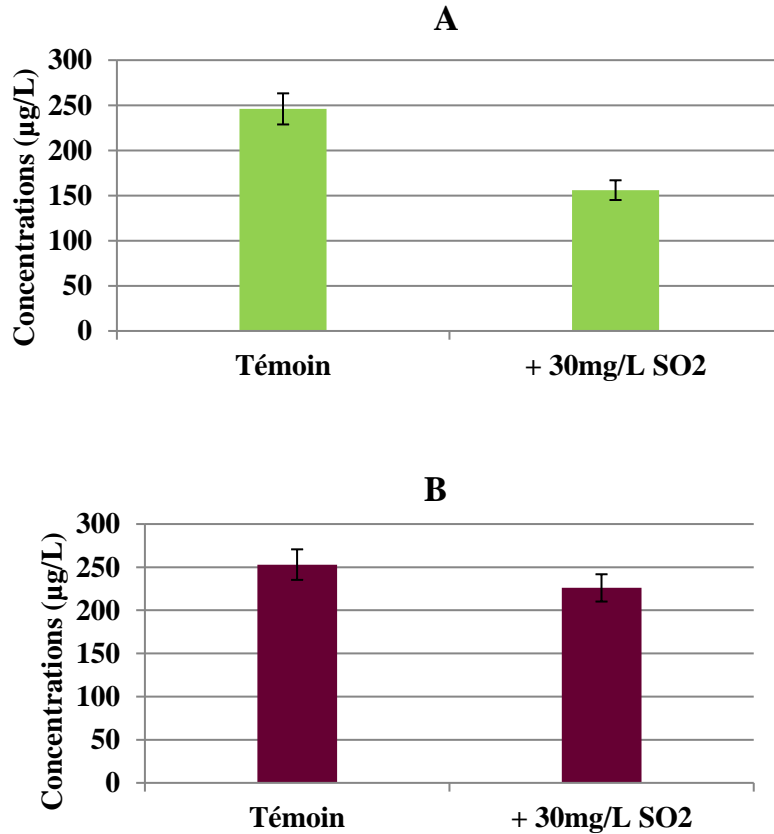


Figure 34 : Incidence du sulfitage sur les teneurs en furanéol dans un milieu modèle de moût (A) et dans un milieu modèle de vin (B)

VII. Conclusion

Dans le Chapitre 2, l'analyse par CPG-O a permis de démontrer la présence systématique de deux zones odorantes (ZO2 et ZO3) évoquant le sucre cuit parmi les zones odorantes principales des moûts et des vins marqués par des nuances de fruits cuits et issus de raisins passerillés. L'utilisation de la CPG-O-SM nous a permis d'identifier ces deux ZO au furanéol et à l'homofuranéol.

Au cours de ce travail, nous avons précisé leurs seuils de perception dans un milieu modèle de composition proche du moût et du vin. Ils sont de 10,5 $\mu\text{g/L}$ et 5,5 $\mu\text{g/L}$ dans les moûts pour le furanéol et l'homofuranéol respectivement ; de 49 $\mu\text{g/L}$ et 26,5 $\mu\text{g/L}$ dans une solution modèle

de vin à pH 3,5 et de 46 µg/L et 14,5 µg/L dans une solution modèle de vin à pH 4. De plus, nous avons montré qu'il existe un effet d'additivité entre ces deux furanones ; la présence de 10 µg/L d'homofuranéol entraîne la diminution de 10 µg/L du seuil de perception du furanéol.

L'optimisation des conditions d'analyse du furanéol et de l'homofuranéol a été nécessaire pour les analyses quantitatives dans les moûts et les vins rouges. Ainsi, nous démontrons que les teneurs en furanéol retrouvées dans les moûts et les vins évoquant des nuances de fruits cuits sont significativement supérieures à celles retrouvées dans les vins témoin ; le furanéol participe à l'arôme des moûts et des vins dans les modalités FC. Aussi, les teneurs d'homofuranéol retrouvées dans les moûts, supérieures au seuil de perception, montrent que ce composé peut participer à l'arôme des moûts. En revanche, aux concentrations retrouvées dans les vins analysés, l'homofuranéol ne participe pas directement à cet arôme mais indirectement par son effet d'additivité avec le furanéol. En mélange et dans la mesure où les teneurs en furanéol sont proches ou supérieures au seuil de perception, ces deux composés participent donc à l'arôme des vins marqués par les nuances de fruits cuits.

Les voies de formation des furanones impliquant les réactions de Maillard entre un pentose et un acide aminé, décrites dans la littérature et nécessitant l'application de températures élevées nous ont conduits à retranscrire ces essais en milieu modèle de composition proche du moût. Nous confirmons que les réactions de Maillard peuvent être une voie expliquant leur formation dans les moûts et au final, dans les raisins. De plus, nous montrons que la présence de glucose et de fructose en milieu acide permet la formation de ces furanones et plus particulièrement le furanéol. En revanche, dans nos conditions expérimentales, la supplémentation d'acides aminés et de pentoses à un milieu de composition proche du moût ne permet pas leur formation.

CHAPITRE 5

LES LACTONES

I. Etude de l'abhexone (ZO4)

1. Etude bibliographique

L'abhexone ou 5-ethyl-3-hydroxy-4-methyl-2(5H)-furanone dont l'odeur évoque une odeur intense de curry a été identifiée pour la première fois par Sulser *et al.* en 1967 comme un produit de dégradation de la thréonine. Cette γ -lactone hydroxylée chirale est retrouvée dans divers fruits et aliments tels que les mûres (Klesk et Qian, 2003), le seigle (Kirchhoff et Schieberle, 2002), le café (Sanz *et al.*, 2002), la sauce tomate (Landy *et al.*, 2002), le riz brun cuit (Jezussek *et al.*, 2002) et aussi le sirop d'érable (Ball, 2007). Ensuite, elle a également été détectée dans les vins de Chardonnay (Buettner, 2004), dans les vins de Sauternes (Bailly *et al.*, 2009) et dernièrement dans les vins jaunes du Jura (Collin *et al.*, 2012). Ses seuils de perception sont de 0,02-0,04 ng/L dans l'air (Blank *et al.*, 1992), de 0,1 $\mu\text{g/L}$ dans l'eau (Buttery, 1999) et de 4,5 $\mu\text{g/L}$ en solution modèle de vin (Bailly *et al.*, 2009). Les teneurs retrouvées dans les vins jaunes du Jura oscillent entre 31 et 74 $\mu\text{g/L}$; ce composé contribue à l'arôme de ces vins (Collin *et al.*, 2012). Toutefois, la distribution ainsi que les seuils de perception des énantiomères de cet homologue alkyl du sotolon n'étant pas connus (Pons *et al.*, 2008a), il est fort probable que ces informations puissent moduler les conclusions de cette dernière étude. A notre connaissance, ce composé, qui est un homologue alkyle du sotolon, n'a jamais été identifié ni dosé auparavant dans les raisins et les vins rouges.

2. Analyses quantitatives de l'abhexone

Les analyses quantitatives de l'abhexone ont été réalisées en s'inspirant des protocoles de dosages du sotolon décrits dans la littérature (Pons, 2006). Il est bien connu que le sotolon est un composé thermosensible (Dagan *et al.*, 2006) ; une injection à basse température est indispensable pour sa détection à de faibles concentrations dans les vins. Aussi, les paramètres de températures d'injecteur et de la source ion optimisés pour le dosage des furanones ont alors été utilisés pour la méthode de dosage de l'abhexone. La méthode utilisée est détaillée dans la partie 2.I.3.d).

Les dosages de l'abhexone ont été réalisés dans les moûts témoin et marqués par des odeurs de fruits cuits (FC). Les teneurs retrouvées sont de 20 ng/L en moyenne (largement inférieures au seuil de perception de 4,5 $\mu\text{g/L}$ retrouvé en solution modèle de vin) et proche de la limite de

détection. Aucune variation de concentration n'a été observée entre les modalités témoin et FC. L'étude de ce composé n'a donc pas été poursuivie dans la suite de nos travaux.

II. Etude des γ -lactones : γ -nonalactone (ZO10) et γ -décalactone (ZO12)

1. Etude bibliographique

Les lactones sont des esters cycliques largement distribués dans la nature et dans une grande variété d'aliments et de boissons. On les retrouve dans des aliments tels que les fruits à noyaux, les légumes, le pain, les noix, les produits laitiers ou encore dans le miel et le pop corn. Elles sont également présentes dans de nombreuses boissons comme le thé, le café et le vin (Maga, 1976).

Les γ -lactones et les δ -lactones sont les deux types de structure retrouvées principalement dans les vins. Les γ -lactones possèdent un cycle à cinq atomes de carbone et rappellent généralement l'odeur de la pêche ou encore de l'abricot. Les δ -lactones possèdent un cycle à six atomes de carbone et évoquent une odeur plutôt lactée rappelant la noix de coco (Mosandl, 1992). Bien que la longueur de la chaîne latérale ainsi que la configuration de chaque molécule va influencer sur les propriétés olfactives, les δ -lactones possèdent en moyenne des seuils de perception plus élevés que les γ -lactones correspondantes (Etiévant et Bayonove, 1983 ; Engel *et al.*, 1988).

Les lactones sont formées à partir de réactions d'estérification interne. Elles peuvent être d'origine fermentaire, comme la γ -butyrolactone, qui proviendrait de la dégradation d'Ehrlich de l'acide glutamique, mais la plupart sont issues de la transformation par des mécanismes chimiques de précurseurs de type acides gras hydroxylés. Par exemple, la γ -nonalactone formée lors de l'élaboration de la bière, est formée par estérification intramoléculaire d'acide linoléique (Tressl *et al.*, 1978).

Dans cette famille des lactones, la γ -nonalactone, tient une place particulière puisqu'elle figure parmi les composés d'impact ; elle rappelle un mélange de pêche cuite et de noix de coco. Cette lactone a déjà été retrouvée dans les vins rouges (Ferreira *et al.*, 2004 ; Cooke *et al.*, 2009) mais aussi dans les vins liquoreux de pourriture noble (Sarrazin, 2007). Les travaux de Pons *et al.* (2008b) ont mis en évidence que ses concentrations augmentaient dans le vin au cours du vieillissement oxydatif. Les concentrations retrouvées dans les vins rouges sont comprises entre

3 et 70 $\mu\text{g/L}$ (Ferreira *et al.*, 2000 ; Gomez-Miguez *et al.*, 2007), et son seuil de perception dans un milieu modèle de vin est de 25 $\mu\text{g/L}$ (Appell, 1969). La γ -décylactone rappelle aussi des nuances complexes de fruits à noyau comme la pêche ou l'abricot et de noix de coco et est retrouvée dans les vins rouges entre 2 et 73 $\mu\text{g/L}$ (Escudero *et al.*, 2007). Son seuil de perception dans un milieu modèle de vin est de 0,7 $\mu\text{g/L}$ (Gemmert, 2003).

Il est acquis que les γ -lactones et les δ -lactones possèdent au moins un carbone asymétrique (Figure 35) et peuvent exister dans la nature sous les formes énantiomériques *R* et *S*.

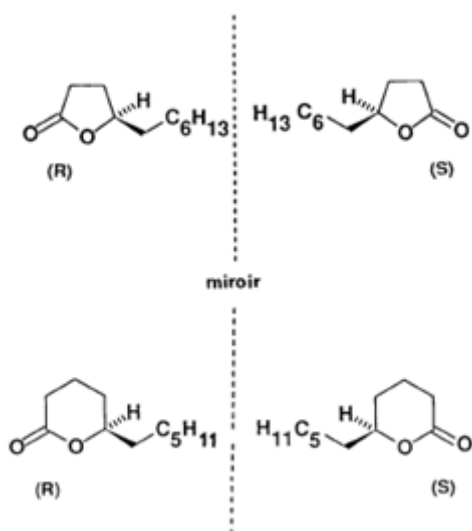


Figure 35 : Atome de carbone asymétrique des γ et δ -lactones (Dufossé *et al.*, 1994)

Comme le montre le Tableau 33, la distribution dans les fruits des énantiomères de chaque lactone varie considérablement. Toutefois, la configuration (*R*) est très souvent majoritaire.

Tableau 33 : Exemples de distribution des énantiomères (R/S) des γ -lactones dans les fruits

Fruits	γ -octalactone	γ -nonalactone	γ -décylactone	γ -dodécylactone	Références
Abricot	89/11	84/16	94/6	100/00	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
Fruit de la passion	59/41	93/07	91/09	98/02	Nitz <i>et al.</i> , 1991
Mangue	53/47	73/27	66/34	100/00	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
Pêche	87/13	85/15	87/13	96/04	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
Fraise	66/34	64/36	98/02	98/02	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
Prune	86/14	70/30	91/09	100/00	Nitz <i>et al.</i> , 1991

Les travaux de Cooke *et al.* (2009) ont mis en évidence que la chiralité des lactones entraînait des différences au niveau des valeurs des seuils de perception. En effet, l'étude sur des vins rouges australiens de différents cépages a montré que les seuils de perception des formes énantiomériques *R* de la γ -octalactone et la γ -nonalactone étaient plus de 1,5 fois plus élevés que ceux des formes énantiomériques *S* tandis que le seuil de perception de la forme énantiomérique *R* de la γ -décylactone était 30% inférieur à celui de la forme *S* (Tableau 34). D'autre part, ces travaux ont mis en évidence que dans les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon, la γ -nonalactone était majoritairement représentée sous la forme énantiomérique *R*.

Tableau 34 : Seuils de perception olfactive des énantiomères des lactones déterminés dans un vin rouge (Cooke *et al.*, 2009)

Composés	Seuils de perception ($\mu\text{g/L}$)
<i>R</i>-γ-octalactone	238
<i>S</i>-γ-octalactone	135
<i>R</i>-γ-nonalactone	284
<i>S</i>-γ-nonalactone	91
<i>R</i>-γ-décylactone	33
<i>S</i>-γ-décylactone	47

Différentes études (Mosandl et Gunther, 1989 ; Cooke *et al.*, 2009) ont montré que l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée conduit à une diminution de l'arôme de noix de coco et une augmentation de la perception des notes fruitées sucrées. Dans ces études,

les formes énantiomères (*R*) semblent être plus odorantes que les formes (*S*) correspondantes (Tableau 35).

Tableau 35 : Descripteurs de différentes formes énantiomères de γ -lactones (Mosandl et Gunther, 1989)

Descripteurs	
<i>R</i>-γ-octalactone	Verte, épice, noix de coco, note d'amande
<i>S</i>-γ-octalactone	Grasse, noix de coco, moins intense que la forme (<i>R</i>)
<i>R</i>-γ-nonalactone	Forte, douce, noix de coco avec un côté gras, lait
<i>S</i>-γ-nonalactone	Grasse, moisissure, note noix de coco, faible, moins intense que (<i>R</i>)
<i>R</i>-γ-décalactone	Forte, note fruitée grasse et douce, noix de coco, caramel
<i>S</i>-γ-décalactone	Doux, noix de coco avec un côté gras et fruité
<i>R</i>-γ-dodécalactone	Forte, douce et fruitée, note florale, aldéhydique et boisée
<i>S</i>-γ-dodécalactone	Gras, fruité, notes lactées

Ces différences de seuils et de distribution des énantiomères nous ont alors amené par la suite à étudier la distribution des énantiomères des γ et des δ -lactones dans nos échantillons ainsi qu'à réaliser les seuils de perception des énantiomères.

2. Dosages de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins

Nous avons dosé la γ -nonalactone dans de nombreux moûts et vins marqués ou non par des odeurs de fruits cuits FC (Chapitre 4, Tableau 32). Les résultats présentés dans la Figure 36 montrent que les teneurs moyennes des moûts sont faibles ; comprises entre 0 et 2 $\mu\text{g/L}$. Les teneurs en γ -nonalactone dans la modalité moût FC semblent être supérieures à celle du témoin, toutefois, ces différences ne sont pas significatives. Dans les vins, les teneurs sont plus importantes que celles retrouvées dans les moûts ; elles sont comprises entre 5 et 65 $\mu\text{g/L}$. Les teneurs retrouvées dans les vins marqués par des odeurs de fruits cuits sont cette fois-ci significativement plus élevées que dans les vins témoins. Elles sont également supérieures à son seuil de perception en solution modèle (25 $\mu\text{g/L}$). Ainsi, à partir de ces résultats préliminaires, ce composé semble participer à l'arôme des vins rouges évoquant des nuances de fruits cuits.

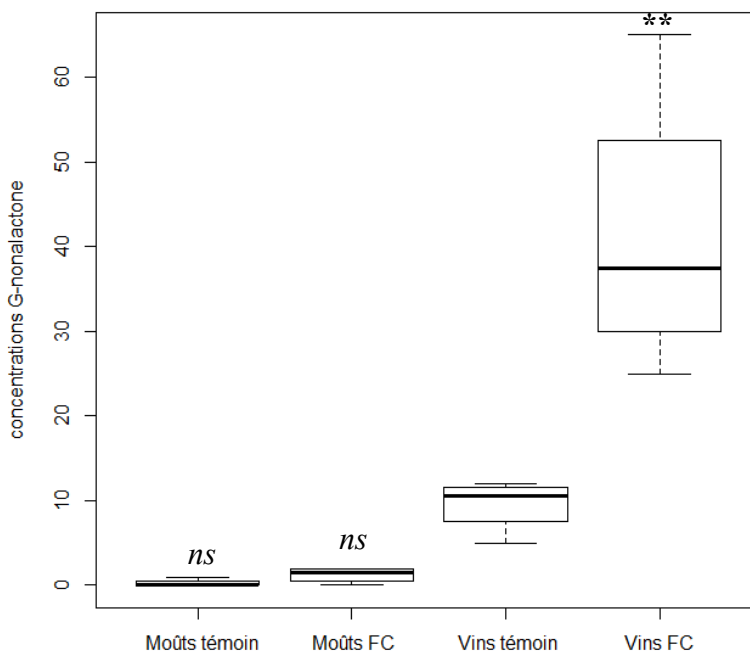


Figure 36 : Comparaison de la distribution des teneurs en γ -nonalactone des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (Représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

**** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)**

3. Dosages de la γ -déalactone dans les moûts et les vins

Nous avons également dosé la γ -déalactone (Figure 37) dans de nombreux moûts et vins marqués ou non par des odeurs de fruits cuits FC. Les analyses quantitatives montrent que ses teneurs sont faibles et ne varient pas significativement entre les moûts et vins témoins et ceux marqués par des nuances fruits cuits. Cependant, les teneurs retrouvées sont légèrement au dessus du seuil de perception en solution modèle de vin ($0,7 \mu\text{g/L}$).

Les travaux de Jarauta *et al.* (2006) ont mis en évidence des phénomènes de synergie entre les composés odorants appartenant à la famille chimique des lactones. Aussi, il n'est pas exclu que la γ -déalactone puisse, en présence de γ -nonalactone contribuer indirectement, à l'arôme de fruits cuits des vins rouges. Par conséquent, des travaux complémentaires sur ce composé seront menés dans la suite de notre travail.

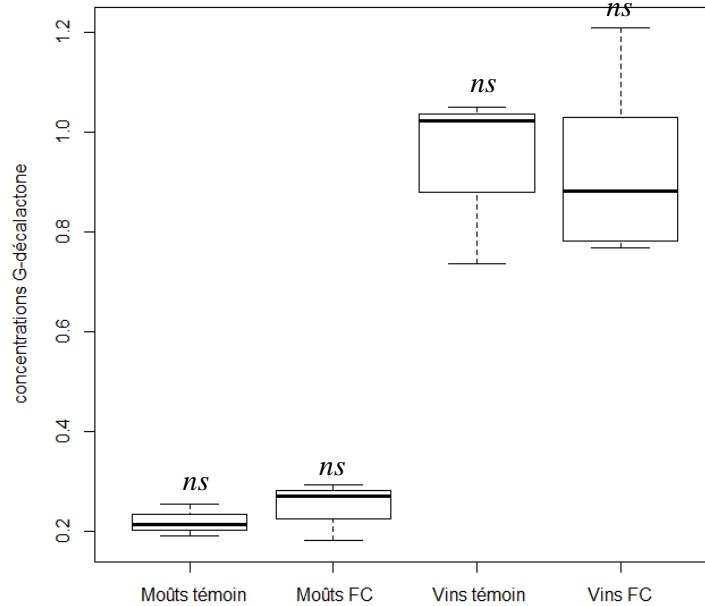


Figure 37 : Comparaison de la distribution des teneurs en γ -décalactone des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (Représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

**** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)**

a) Recherche d'une voie de formation de la γ -nonalactone

Dans un premier temps, nous avons détecté cette lactone à des concentrations variables dans les moûts marqués ou non par des nuances de fruits cuits. Ainsi, la présence de cette lactone dans les moûts tire probablement son origine de mécanismes biochimiques voire chimiques présents dans la baie de raisin.

Les résultats obtenus mettant également en évidence l'augmentation très importante de la teneur en γ -nonalactone dans les vins comparée à celles dans les moûts, nous ont amenés à nous intéresser à ses voies de formation, notamment celles impliquant le métabolisme levurien. Cette observation n'est pas nouvelle, mais son explication dans les vins demeure toujours incertaine.

En effet, de nombreuses études ont été menées sur l'origine des lactones via la recherche de leurs précurseurs hydroxylés. Les travaux de Tressl *et al.* (1978) ont permis de mettre en évidence que lors de l'élaboration de la bière, la γ -nonalactone était issue du métabolisme des acides gras et plus particulièrement de l'acide linoléique (Figure 38) ; lors de l'élaboration du malt, l'acide linoléique est transformé en acide 4-oxononanoïque. Ce composé est ensuite

métabolisé, sous l'action de la levure, en acide 4-hydroxy-nonanoïque. Enfin, par une estérification cyclique en milieu acide, la γ -nonalactone est alors formée.

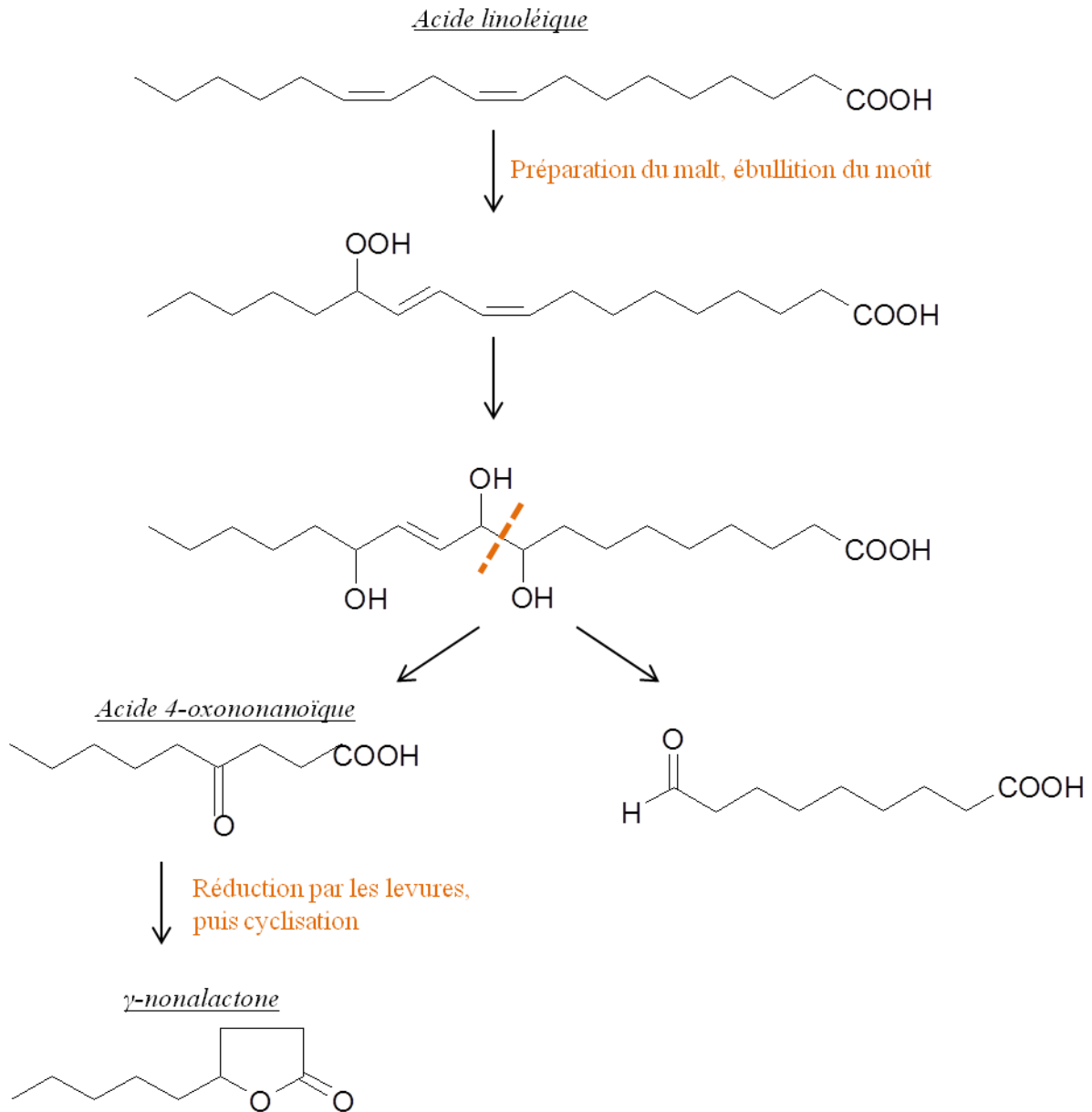


Figure 38 : Formation de la γ -nonalactone lors de l'élaboration de la bière (Tressl *et al.*, 1978)

S'inspirant de ces travaux, nous avons lancé des expérimentations permettant de rechercher le précurseur de la γ -nonalactone présent dans les moûts et les vins. La contribution de l'acide linoléique (Figure 39) a été étudiée.

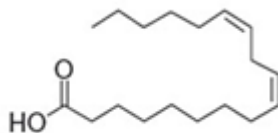


Figure 39 : Structure chimique de l'acide linoléique

b) Protocole expérimental

Dans des échantillons de 100 mL de milieu modèle de moût (220 g/L fructose/glucose, 5 g/L acide tartrique, pH 3,5 – NaOH 5 M), on ajoute 10 mg/L d'acide linoléique. La teneur en acide linoléique supplémentée est élevée pour accentuer le phénomène ; dans la littérature, le moût contient 10 mg/L de l'ensemble des acides gras (Beltran *et al.*, 2008). Les échantillons sont placés dans des bouteilles en verre ambré de 100 mL à l'abri de l'oxygène et dans l'obscurité de l'étuve. Après 4 jours passés à 60°C, les lactones sont quantifiées.

Ensuite, afin d'étudier l'incidence de la fermentation alcoolique sur le métabolisme des lactones, des FA ont été lancées sur les milieux modèle de moût (dont la composition est détaillée dans la Partie 2- III) supplémentés ou non avec l'acide linoléique et nous avons réalisé les dosages des lactones avant et après FA.

c) Etude de la contribution de l'acide linoléique à la formation de la γ -nonalactone dans les moûts

Dans un premier temps, nous avons souhaité préciser le rôle des mécanismes chimiques impliquant la dégradation oxydative de l'acide linoléique sur la formation de la γ -nonalactone dans un moût modèle.

Après 4 jours passés dans une étuve thermostatée à 60°C, les échantillons ont été analysés. La γ -nonalactone n'est détectée dans aucune modalité. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, il semble que l'oxydation de l'acide linoléique ne peut expliquer la formation de cette lactone dans les moûts.

d) *Étude de la contribution de l'acide linoléique à la formation de la γ -nonalactone au cours de la fermentation alcoolique*

Nous avons étudié l'incidence de la fermentation alcoolique (FA) sur la formation de la γ -nonalactone à partir d'acide linoléique (Figure 40). Nous observons que le métabolisme levurien permet la formation de γ -nonalactone dans un milieu modèle témoin de moût. L'ajout de 10 mg/L d'acide linoléique dans un milieu modèle de moût permet la formation de seulement 3 μ g/L de γ -nonalactone dans le vin lorsque l'on prend en compte les 1 μ g/L déjà formés par le milieu modèle témoin. Bien entendu ces concentrations sont faibles au regard de celles retrouvées précédemment dans les vins, mais il n'est pas exclu que des concentrations en acide linoléique plus importantes puissent générer des quantités plus importantes de γ -nonalactone. Enfin, il est fort probable que des facteurs externes, liés à la température de fermentation, ou bien internes, en lien avec la composition du moût, puissent moduler la production de γ -nonalactone par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de cet acide (An et Oh, 2013). D'autre part, le choix de la souche de levure conditionne la formation de ce composé dans les vins (Alchihab *et al.*, 2010).

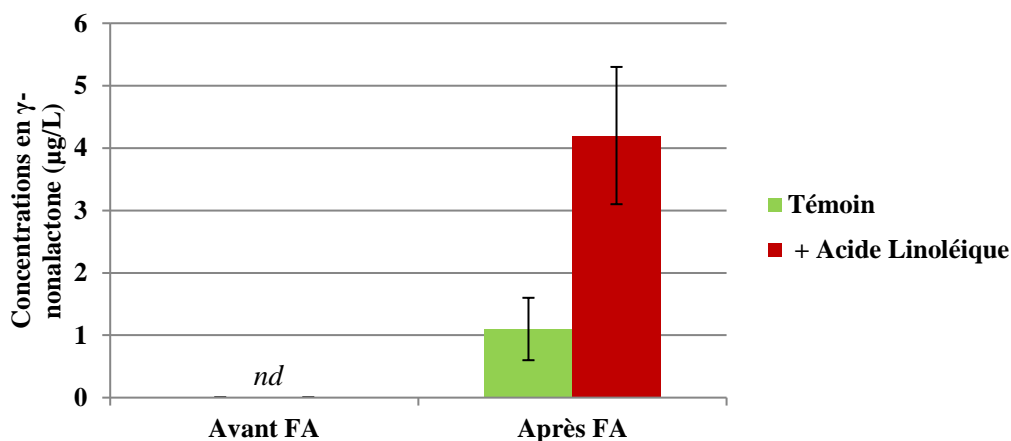


Figure 40 : Incidence de la fermentation alcoolique sur la formation de la γ -nonalactone dans un milieu modèle témoin (Témoin) ou supplémenté avec 10mg/L d'acide linoléique (+ Acide Linoléique). nd : non détecté

III. Etude de la massoia lactone (ZO20)

Notre approche préliminaire par CPG-O nous avait permis de mettre en évidence une zone odorante (ZO20) aux nuances de noix de coco et de figue. Nous l'avons détectée uniquement dans les moûts et les vins marqués par les nuances de fruits cuits. L'identification a été réalisée par comparaison des indices linéaires de rétention et du spectre de fragmentation (EI) avec ceux des bases de données Nist et Willey, ainsi que par co-injection avec le composé pur : il s'agit d'une lactone, la massoia lactone.

1. Etude bibliographique

Cette alkyle lactone insaturée chirale a tout d'abord été identifiée par Abe (1937) dans l'écorce de bois d'une espèce endémique retrouvée dans les forêts tropicales indonésiennes *Cryptocaria massoia*. Par la suite, sa présence a été précisée dans l'huile essentielle de *Calligonum polygonoide* (Samejo *et al.*, 2013) et dans l'*Aeollanthus suaveolens*, plante brésilienne évoquant des odeurs de noix de coco (Lupe *et al.*, 2007). Ce composé a également été identifié et dosé dans les vins de Tokaj (Miklosy *et al.*, 2004) ainsi que dans les vins liquoreux de pourriture noble du bordelais (Sarrazin, 2007). Cependant, aux concentrations rencontrées, le plus souvent inférieures à 5 µg/L, ce composé ne contribue pas à l'arôme des vins issus de pourriture noble.

Dans les fruits, la massoia lactone est présente uniquement sous la forme énantiomérique *R*. Récemment, les travaux de Pons A. *et al.* (2011b) ont permis de montrer grâce à l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle sur colonne chirale couplée à la spectrométrie de masse que seulement la (*R*)-massoia lactone est présente dans les moûts et les vins rouges. Les seuils de perception ont été réalisés par ce même auteur ; dans le moût (glucose + fructose : 240 g/L, pH 3,5) il est de 10 µg/L, dans un milieu modèle de composition proche du vin (Ethanol : 12% vol., pH 3,5) il est de 11 µg/L et dans le vin rouge il est de 56 µg/L.

2. Optimisation des conditions d'analyse

a) Optimisation du protocole d'extraction

Pour la quantification de la massoia lactone, nous avons choisi d'utiliser la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Deux protocoles d'extraction ont été testés afin de sélectionner la meilleure méthode de dosage : l'extraction liquide-liquide et l'extraction par SPME (Solid Phase Micro Extraction). Les paramètres utilisés pour ces deux protocoles d'extraction sont les mêmes que ceux utilisés pour les lactones (SPME-CPG-SM) et pour les furanones (Liquide-liquide-CPG-SM). Deux gammes d'étalonnage ont été préparées en supplémentant à 100 mL de moût des concentrations croissantes de massoia lactone comprises entre 0 et 50 µg/L. Chacune des deux gammes a été extraite par extraction liquide-liquide (décrite dans Partie 2.I.2.a) ou SPME (décrite dans la Partie 2.I.2.b). Puis chaque niveau de concentration a été analysé par CPG-SM. La séparation chromatographique est réalisée sur une colonne polaire de type BP20 dans les conditions détaillées dans la Partie 2.I.3.d) pour les extraits liquides et dans la Partie 2.I.3.e) pour les extraits de SPME.

Une courbe d'étalonnage est ensuite construite sur la base d'une corrélation linéaire entre les concentrations et le rapport de l'aire du pic d'intérêt sur celle de l'étalon interne pour chacune des deux méthodes. Les caractéristiques des deux méthodes de dosage de la massoia lactone dans le moût sont résumées dans le Tableau 36.

Tableau 36 : Comparaison des courbes de calibration de la massoia lactone dans les vins rouges à partir d'une extraction par SPME et d'une extraction liquide-liquide

Type Extraction	Ion utilisé pour la quantification (m/z)	Courbe de calibration	R ²	Gamme de linéarité (µg/L)	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
SPME	97	$y=7,8595x-0,07$	0,9592	1-50	10	40
Liquide-Liquide	97	$y=40,96x-2,49$	0,9924	1-100	2	8

Comme le montre le Tableau 36, l'extraction liquide-liquide semble être la mieux adaptée pour quantifier la massoia lactone puisque le coefficient de corrélation est supérieur à 0,99. Aussi, la limite de quantification est beaucoup plus basse à partir d'un extrait de moût ou de vin issu d'extraction liquide-liquide. Pour la suite du développement de la méthode, nous avons donc utilisé l'extraction liquide-liquide pour la préparation des échantillons.

b) Courbes de calibration

Des gammes étalon ont ensuite été réalisées dans du moût et du vin pour valider la méthode de dosage. L'étalon interne utilisé est le même que celui utilisé pour les lactones : le 3-octanol. Les caractéristiques de la méthode de dosage de la massoia lactone dans le moût et le vin sont résumées dans le Tableau 37. Ce tableau précise les limites de quantification de chaque composé correspondant à la concentration minimale générant un signal dix fois supérieur au bruit de fond.

Tableau 37 : Paramètres des courbes de calibration de la massoia lactone dans les moûts et les vins

Composé	Matrice	Répétabilité	Courbe de calibration	R ²	Gamme de linéarité (µg/L)	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
Massoia lactone	MOÛT	6%	$y=10,47x+3,04$	0,9901	1-100	1	3
Massoia lactone	VIN	6%	$y=40,96x-2,49$	0,9924	1-100	2	8

L'ensemble de ces résultats valide donc la méthode de quantification de la massoia lactone dans les moûts et les vins rouges.

3. Analyses quantitatives de la massoia lactone dans les moûts et les vins

Les analyses quantitatives de la massoia lactone dans des échantillons de moûts et de vins (les mêmes que ceux utilisés pour les dosages des furanones) ont été réalisées et traitées statistiquement par une ANOVA (Figure 41). On montre que les teneurs dans les moûts sont supérieures à celles retrouvées dans les vins. On observe des différences significatives entre les modalités témoins et FC dans les moûts. Dans les vins, les teneurs sont moindres et il n'existe pas de différences significatives entre les modalités FC et témoin.

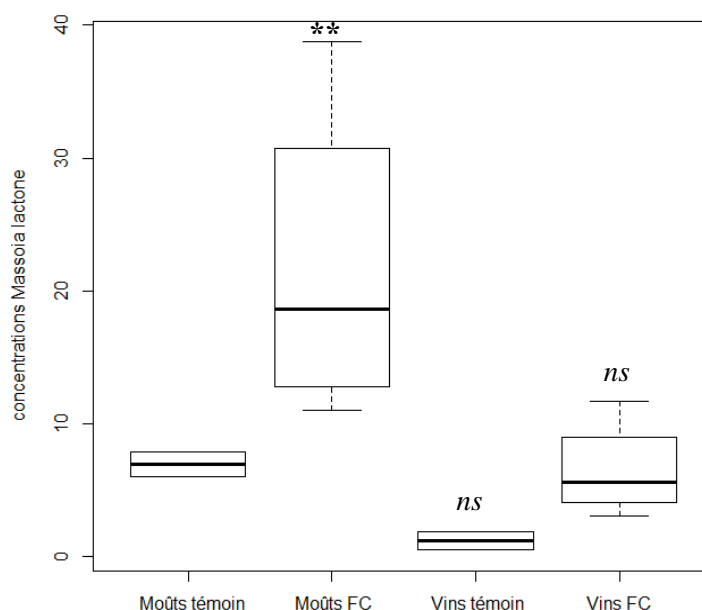


Figure 41 : Comparaison de la distribution des teneurs en massoa lactone des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (Représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

**** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)**

Ces analyses, montrant des teneurs dans les moûts pouvant atteindre 34 $\mu\text{g/L}$, démontrent la nécessité de poursuivre l'étude des facteurs modulant sa formation dans les moûts et les vins. Aussi, ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans les travaux de Pons *et al.* (2011b).

4. Incidence de la fermentation alcoolique sur les teneurs en massoa lactone

a) Protocole expérimental

Une modalité témoin contenant 1 L de milieu modèle de moût (MS) (dont la composition est détaillée dans le Partie 2 - III) non supplémenté et une modalité contenant 1 L de MS supplémenté avec 38 $\mu\text{g/L}$ de massoa lactone sont placées dans des bouteilles de 1,5 L. Les fermentations alcooliques sont réalisées selon le même protocole que celui décrit précédemment pour la recherche de précurseur de la massoa lactone. Pour suivre l'évolution des lactones et de la massoa lactone, 110 mL sont prélevés à 0%, 40%, 70% et 100% de la fermentation alcoolique.

b) Résultats

Les résultats sont présentés Figure 42. Tout d'abord, la massoia lactone n'a pas été détectée dans la modalité témoin. On observe par ailleurs une diminution de la teneur en massoia lactone dans l'échantillon supplémenté, se finalisant par sa disparition totale à partir de 70% de la fermentation alcoolique.

La massoia lactone est l'équivalent insaturé de la δ -décalactone (Figure 43). La fermentation alcoolique étant un milieu fortement réducteur, nous avons émis l'hypothèse que la massoia lactone pouvait être réduite en δ -décalactone au cours du processus fermentaire. Cette dernière lactone a été quantifiée par SPME-CPG-SM dans des conditions analytiques précisées par ailleurs dans la Partie 2.I.3.e). Nous avons pu observer que, dès les premières heures de la FA, la δ -décalactone est détectée (Figure 42). Toutefois, sa concentration est nettement plus importante dans la modalité supplémentée en massoia lactone. La formation de cette δ -lactone a lieu entre 0% et 40% de la FA. Par ailleurs nous pouvons observer que sa formation est bien corrélée avec la disparition de la massoia lactone qui est presque totale à 40% de la FA.

On peut émettre l'hypothèse que l'action métabolique de la levure entrainera la perte de la double liaison du cycle de la massoia lactone, la transformant en δ -décalactone ; l'impact organoleptique de la δ -décalactone (Sp : 100 $\mu\text{g/L}$ dans solution modèle vin – Gemmert, 2003) étant moindre comparé à celui de la massoia lactone (Sp : 56 $\mu\text{g/L}$ dans le vin rouge). Cependant, cette hypothèse est à confirmer puisqu'en partant d'une concentration de 38 $\mu\text{g/L}$ en massoia lactone dans le milieu synthétique, seulement 4 $\mu\text{g/L}$ de δ -décalactone environ sont formés, c'est-à-dire que le rendement de transformation de la massoia lactone en δ -décalactone ne serait que de 10,5%.

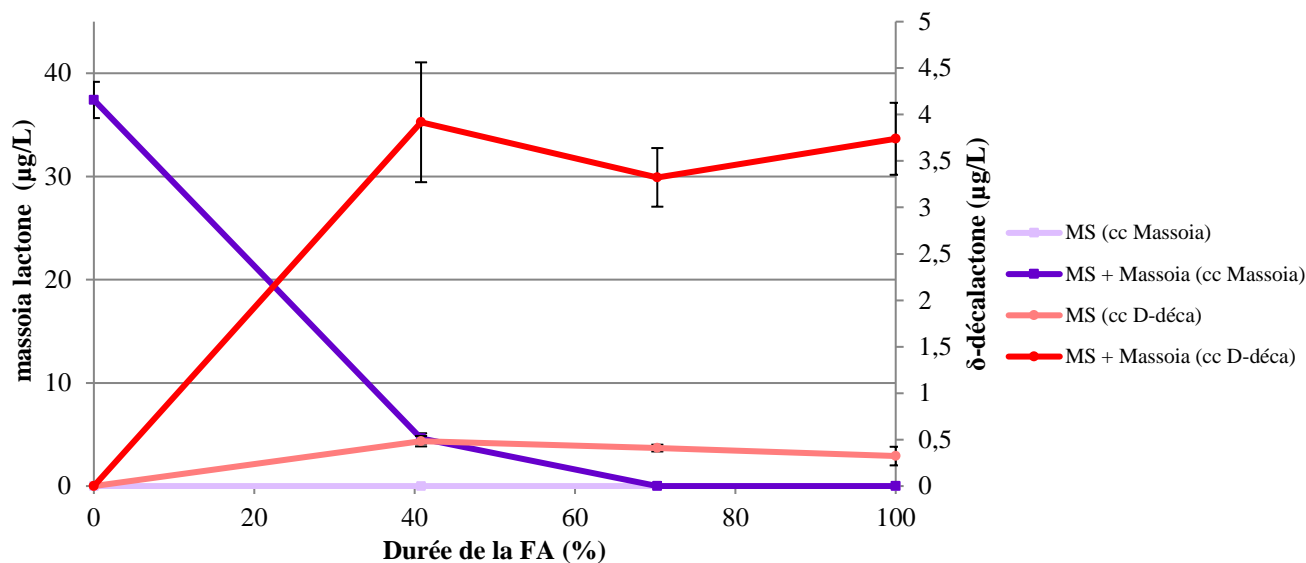


Figure 42 : Evolution de la massoia lactone et de la δ -décalactone au cours de la fermentation alcoolique dans un milieu modèle de moût supplémenté ($38\mu\text{g/L}$, MS + Massoia) ou non en massoia lactone (MS) - $n = 2$



Figure 43 : Formules développées de la massoia lactone (A) et de la δ -décalactone (B)

5. Recherches sur le précurseur de la massoia lactone

Nous venons de montrer que la massoia lactone du moût peut être totalement dégradée par la levure. Cependant, les résultats des précédents dosages dans les moûts et les vins nous révèlent que cette lactone peut être trouvée à des teneurs non négligeables dans les vins. Aussi, pour expliquer cette observation et en s'inspirant des résultats obtenus sur le métabolisme de la γ -nonalactone, nous avons émis l'hypothèse que la massoia lactone, qui était catabolisée par la levure, pourrait être également produite sous l'action du métabolisme levurien.

Dans le même raisonnement que pour la voie de biosynthèse de la γ -nonalactone, nous avons émis l'hypothèse que la massoia lactone pourrait provenir d'un acide gras. La littérature reporte l'acide ricinoléique comme précurseur potentiel de la massoia lactone (Dupé *et al.*, 2012) (Figure 44).

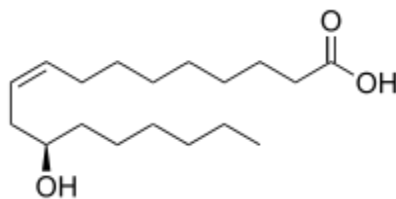


Figure 44 : Formule développée de l'acide ricinoléique

a) Protocole expérimental

Dans un milieu modèle de moût (dont la composition est détaillée dans la Partie 2 - III), nous avons supplémenté 3 échantillons par 1, 2,5 et 5 mg/l d'acide ricinoléique avant de lancer les FA. L'ensemencement est réalisé avec la souche de levure FX10[®] (20 g/hL, Laffort œnologie) préalablement réhydratée dans l'eau osmosée à 37°C pendant une demi-heure. La préparation est laissée à température ambiante pendant une heure avant l'inoculation. Les bouteilles sont placées dans une chambre thermostatée à 24°C. Le suivi des cinétiques de fermentation se fait par la mesure quotidienne de la perte de CO₂ à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France). Après FA, les teneurs en massoia lactone sont mesurées.

b) Résultats

Au final, dans la modalité témoin (sans ajout d'acide ricinoléique) ainsi que dans les autres modalités supplémentées nous ne détectons pas de massoia lactone. L'acide ricinoléique n'entraîne pas la formation de massoia lactone dans les vins au cours de la FA.

IV. Conclusion

Les analyses en CPG-O-SM nous ont permis d'identifier 4 zones odorantes retrouvées uniquement dans les modalités issues de raisins sur-muris. Ces 4 composés appartiennent à la famille des lactones et sont l'abhexone (ZO4), la γ -nonalactone (ZO10), la γ -décalactone (ZO12) et la massoia lactone (ZO20).

L'abhexone est décrite pour la première fois dans les moûts. Nous avons dosé ce composé dans différents moûts ; les teneurs sont très inférieures au seuil de perception. Ainsi, cette lactone ne semble pas en lien avec le caractère fruit cuit de ces moûts.

En revanche, les analyses quantitatives de la γ -nonalactone montrent que ce composé volatil participe à l'arôme des vins marqués par des odeurs de fruits cuits. A ce jour, aucune voie de biosynthèse dans les raisins n'a été élucidée ; le précurseur potentiel décrit dans la littérature et retrouvé dans les raisins est l'acide linoléique. Les essais mis en œuvre au laboratoire montrent que le métabolisme levurien combiné à la présence d'acide linoléique entraîne la formation de γ -nonalactone. Bien que les teneurs retrouvées soient faibles, cet acide gras reste un potentiel précurseur dans la voie de biosynthèse de la γ -nonalactone.

Les teneurs en γ -décalactone retrouvées dans les moûts sont extrêmement faibles ; dans les vins, elles restent juste supérieures au seuil de perception (en solution modèle de vin). Les effets de synergie reportés dans la littérature entre les lactones indiquent que ce composé pourrait, malgré les faibles teneurs rencontrées, participer à l'arôme des vins.

La massoia lactone est la dernière lactone à avoir été identifiée dans ce travail. Son dosage réalisé par CPG-SM nous a permis de montrer que les teneurs retrouvées dans les moûts sont supérieures à celles retrouvées dans les vins. Au cours de ce travail nous avons pu préciser le rôle de la fermentation alcoolique sur les teneurs en massoia lactone des vins. Nous montrons que ce composé est réduit au cours de la FA au profit de la δ -décalactone. Nous avons estimé le rendement de cette conversion à 10%. Enfin, la recherche d'une voie de biosynthèse ne permet pas de conclure sur un potentiel précurseur ; l'acide ricinoléique, acide gras supplémenté dans les essais, ne favorise pas la formation de massoia lactone. Au final, bien qu'il y ait des différences significatives entre les modalités dans les moûts, les teneurs élevées retrouvées dans les moûts marqués par les odeurs de fruits cuits montrent que ce composé est potentiellement intéressant et sera étudié dans la suite des travaux.

CHAPITRE 6

LES CETONES

I. Etude de la (Z)-1,5-octadien-3-one (ZO18)

1. Etude bibliographique

La zone odorante ZO18 aux nuances de géranium a été détectée par CPG-O, uniquement sur colonne polaire. Elle a été identifiée par correspondance des indices linéaires de rétention sur colonne polaire avec ceux de la littérature : ils sont de 1380 sur colonne polaire dans les travaux de Mayer *et al.* (2002), 1381 selon Delort *et al.* (2012) et de 1376 dans nos travaux.

Cette cétone est retrouvée uniquement dans les moûts et les vins marqués par les nuances de fruits cuits. A notre connaissance, nous reportons pour la première fois la présence de ce composé dans les moûts et les vins issus de raisins sur-muris. En effet, dans les raisins, sa présence est plutôt associée au développement de pathogènes tels *Uncinula necator* encore appelé oïdium (Darriet *et al.*, 2002).

Table 1 : Distribution of odoriferous zone geranium in musts and wines control (Control) and from overripening grapes (Overripe) – (nd : undetected ; * : high intensity)

LRI *	Odor description	MUSTS		WINES	
		Control ¹	Overripe ²	Control ¹	Overripe ²
1376	Geranium	Nd	*	Nd	*

Ce composé a été décrit pour la première fois par Swoboda et Peers (1977) comme étant responsable de l'odeur métallique des matières grasses oxydées. Il a été détecté par CPG-O dans des extraits de tomates (Mayer *et al.*, 2002), dans le thé vert japonais (Kumazawa et Masuda, 1999), dans le fromage Cheddar (Zehentbauer et Reineccius, 2002), dans la fraise (Ubeda *et al.*, 2012), dans les champignons (Tressl *et al.*, 1982), dans l'huile de soja (Guth et Grosch, 1990) et dans l'huile d'olive (Reiners et Grosch, 1998). Plus récemment, les travaux de Greger et Schieberle (2007) ont permis de mettre en évidence par l'intermédiaire d'expériences d'omissions que la (Z)-1,5-octadien-3-one contribue à l'arôme de l'abricot frais. Dans la nature, il est retrouvé sous la forme *cis* (Z). Les hypothèses de formation décrites dans la littérature concernent l'évolution oxydative de l'odeur des matières grasses (Swoboda et Peers, 1977 ; Hammer et Schieberle, 2013). Ce composé proviendrait de l'oxydation de formes

précurseurs comme l'acide linoléique et les n-3 homologues, tel que l'acide eicosapentaénoïque (Norman *et al.*, 2000).

Les seuils de perception dans l'eau de ce composé sont répertoriés dans le Tableau 38.

Tableau 38 : Seuils de perception de la (Z)-1,5-octadien-3-one retrouvés dans la littérature

Auteurs	Seuils de perception dans l'eau (ng/L)
Swoboda et Peers (1977)	1,2
Whitfield <i>et al.</i> (1982)	1
Buttery (1989)	1
Milo et Grosch (1997)	1.2
Darriet <i>et al.</i> (2002)	0,7-0,9

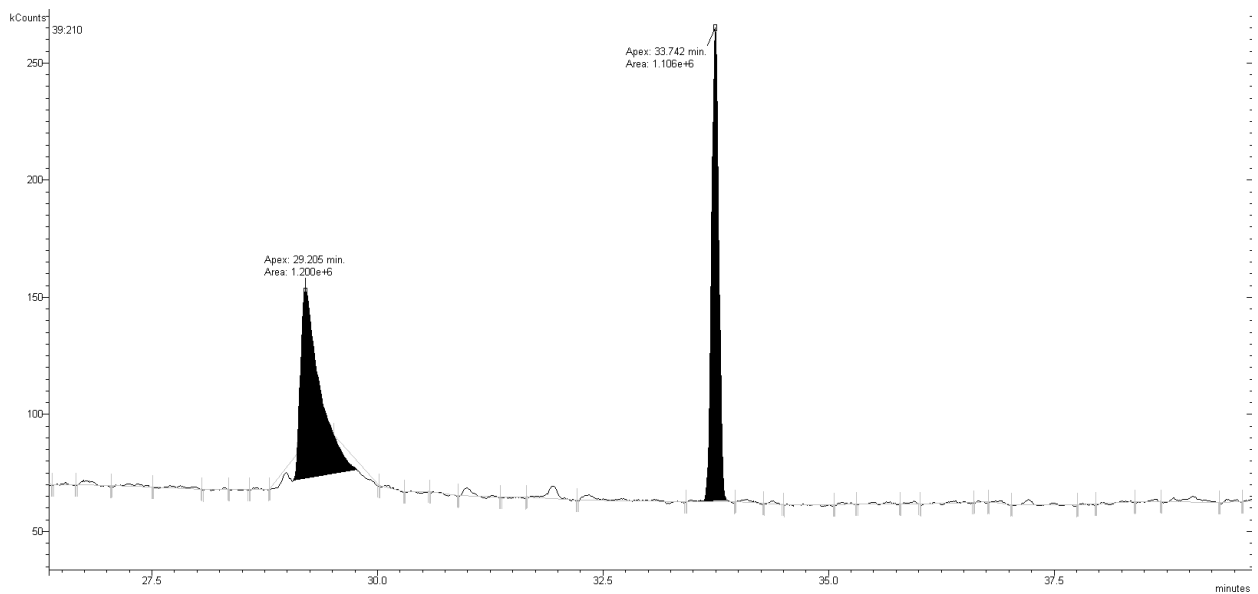
Les valeurs extrêmement basses des seuils de perception dans l'eau ont suscité notre intérêt et justifié la nécessité de développer une méthodologie adaptée à la quantification de ce composé probablement présent à l'état de traces dans nos échantillons.

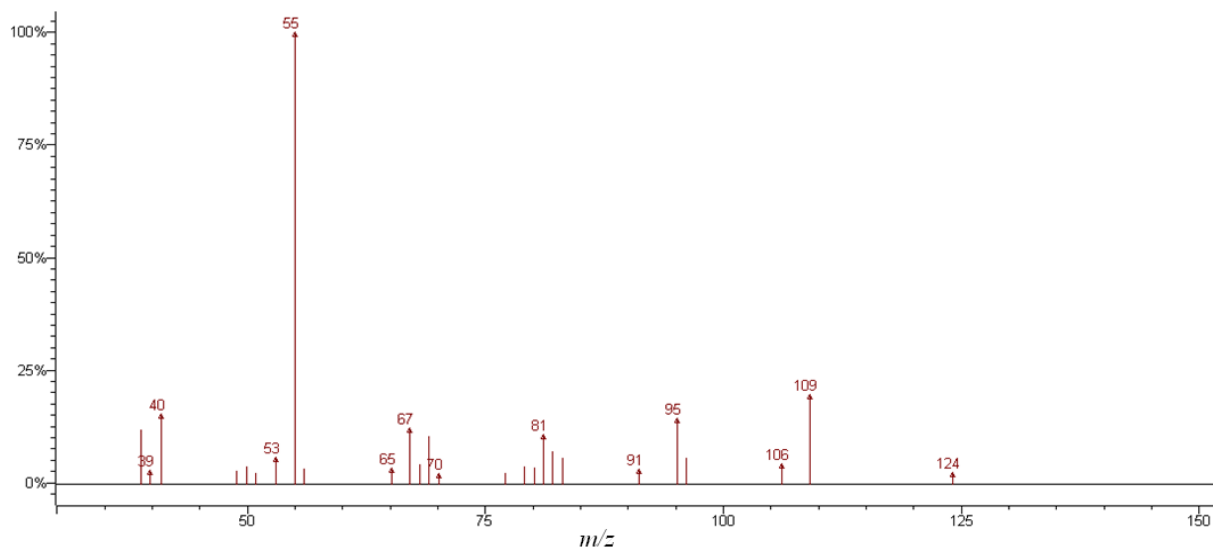
2. Optimisation des conditions d'analyses de la (Z)-1,5-octadien-3-one

a) Caractéristiques chromatographiques

Le produit pur n'est pas commercialisé, il nous a été fourni par la société Nestlé. Tout d'abord le produit pur dilué dans du dichlorométhane a été analysé par CPG-SM (trappe à ions) sur une colonne polaire (BP 20). Nous avons ainsi confirmé la pureté du produit (97 %) ainsi que la séparation de ses tautomères lors de l'analyse chromatographique. Ils sont retrouvés dans des proportions équivalentes (50/50). Les deux spectres de fragmentation obtenus par impact électronique des deux pics (Pic 1 Tr 29,9 min et Pic 2 Tr 34 min) de la (Z)-1,5-octadien-3-one sont présentés dans la Figure 45.

Les spectres de masse obtenus par impact électronique sont très fragmentés. Ils présentent de nombreux ions de faibles intensités et de faibles rapports m/z rendant délicat sa quantification par cette technique d'ionisation. Aussi, nous avons évalué une autre technique d'ionisation plus douce, adaptée à l'utilisation d'un analyseur de type trappe à ion : l'ionisation chimique (CI). Le gaz réactant utilisé dans nos applications est le méthanol. Son usage a préalablement été validé au laboratoire pour la quantification en ionisation chimique d'un autre cétone présent à l'état de trace dans les vins : la 3-méthyl-2,4-nonanedione (Pons *et al.*, 2011a).

A**B**



C

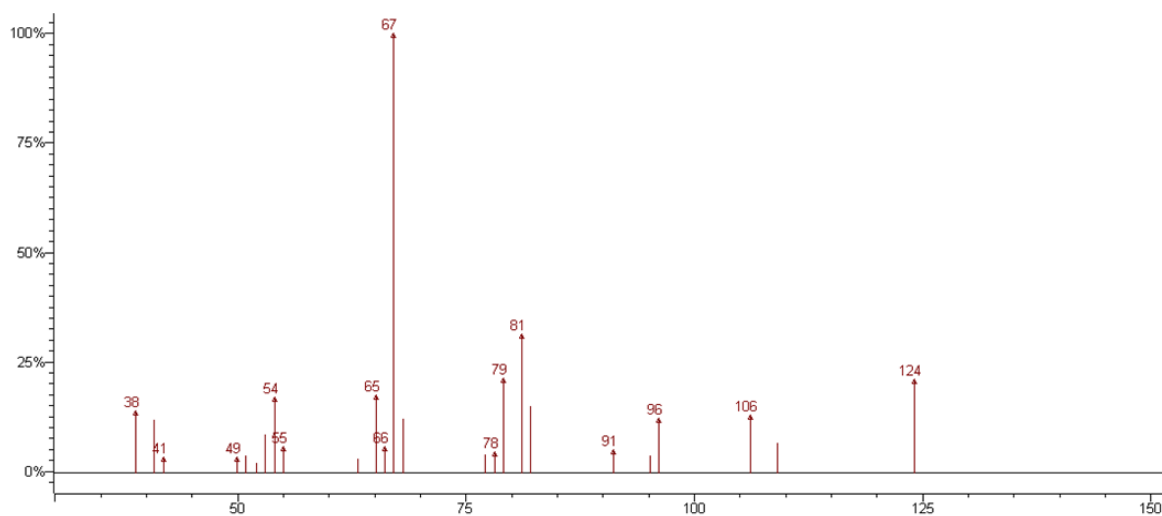


Figure 45 : Chromatogramme (A) et spectres de fragmentation du pic 1 (B) et du pic 2 (C) de la (Z)-1,5-octadien-3-one obtenus par impact électronique en mode SCAN (m/z 38-150)

Le spectre de masse (obtenu en CI avec du méthanol) des deux tautomères sont similaires. Nous présentons à titre d'exemple celui du pic 1 (Figure 46). L'ion majoritaire MH^+ est le m/z 125 ; nous sélectionnons cet ion pour la quantification de ce composé.

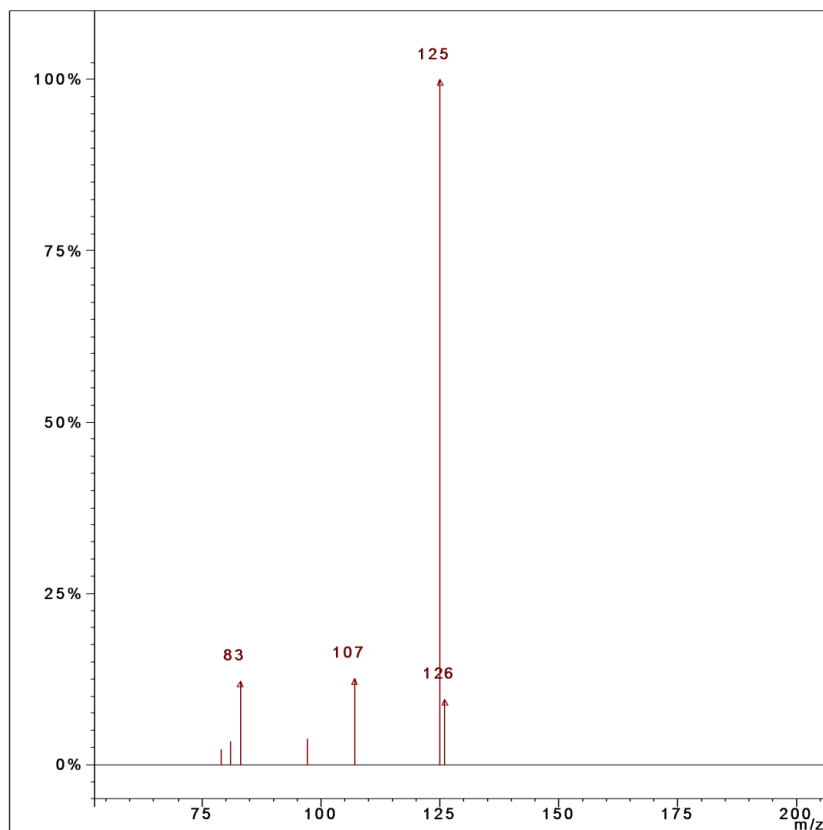
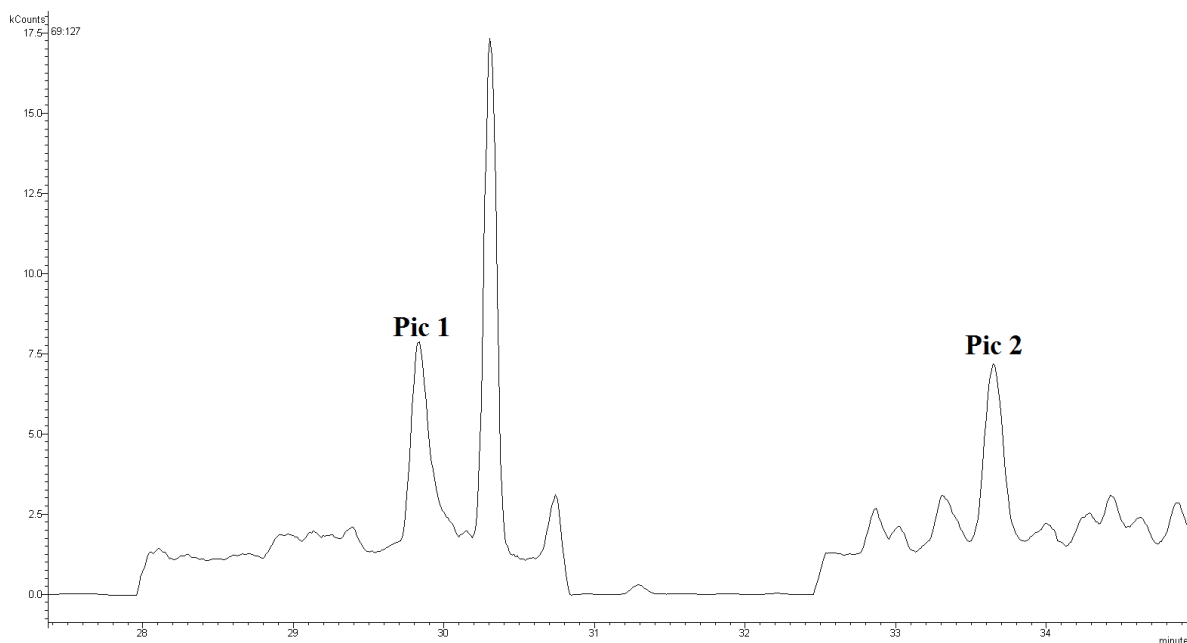


Figure 46 : Spectre de fragmentation de la (Z)-1,5-octadien-3-one (Pic 1) obtenu par ionisation chimique (CI, MeOH) en mode SCAN (m/z 75-200)

La co-injection de la (Z)-1,5-octadienone à un extrait organique de moût suivi de son analyse par CPG-SM-CI a permis de confirmer son identification. Le chromatogramme est présenté dans la Figure 47. Dans certains échantillons de moût, nous avons observé que le Pic 2 est peut être co-élué avec un autre composé dont nous ne connaissons pas la nature et qui présente un ion de masse m/z 125. Aussi, l'optimisation des conditions d'extraction et d'analyse par spectrométrie de masse a été réalisée avec le premier pic chromatographique.



**Figure 47 : Exemple de chromatographie d'un échantillon de moût supplémenté avec la (Z)-1,5-octadien-3-one et analysé en CPG-SM CI (m/z 125) sur colonne polaire (BP20).
Pic 1 et Pic 2 : formes tautomères**

b) Optimisation des paramètres d'extraction

L'extraction liquide-liquide nécessite de disposer au minimum de 50 mL d'échantillon. Les faibles volumes de nos échantillons nous ont alors conduits à développer une méthode de dosage à partir d'une extraction par SPME.

Pour le développement de cette méthode de dosage, 5 facteurs de l'extraction ont été optimisés : le type de fibre SPME, la température d'incubation, le temps d'extraction, la quantité de sulfate d'ammonium et le volume de l'échantillon.

Parmi les fibres testées, un travail préliminaire a montré une plus grande extractibilité de cette cétone par un revêtement de type DVB/CAR/PDMS. Au final, le signal obtenu en CPG-SM-CI est en moyenne deux fois plus élevé qu'avec un revêtement à base de PDMS/DVB.

Les 4 autres facteurs d'extraction testés sont décrits dans le Tableau 39. Les paramètres choisis pour les essais sont des conditions opposées et extrêmes afin de pouvoir évaluer au mieux le facteur à sélectionner.

Tableau 39 : Paramètres d'extraction testés en SPME pour l'optimisation de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one

Facteurs	+1	-1
Température d'incubation (°C)	60	50
Temps d'extraction (min)	30	10
Quantité de sels (g)	6	1
Volume d'échantillon (mL)	8	2

Au total, 16 tests ont été menés correspondant à un plan factoriel complet 2⁴ (Tableau 40). Les essais ont été réalisés sur un moût et sur un vin de Merlot de la région bordelaise supplémentés de 200 ng/L de (Z)-1,5-octadien-3-one.

Tableau 40 : Plan factoriel 2⁴

Nombre de tests	Température d'incubation (A)	Temps d'extraction (B)	Quantité de sels (C)	Volume d'échantillon (D)
1	+1	+1	+1	+1
2	-1	+1	+1	+1
3	+1	-1	+1	+1
4	-1	-1	+1	+1
5	+1	+1	-1	+1
6	-1	+1	-1	+1
7	+1	-1	-1	+1
8	-1	-1	-1	+1
9	+1	+1	+1	-1
10	-1	+1	+1	-1
11	+1	-1	+1	-1
12	-1	-1	+1	-1
13	+1	+1	-1	-1
14	-1	+1	-1	-1
15	+1	-1	-1	-1
16	-1	-1	-1	-1

Les résultats obtenus pour le moût et le vin sont présentés sous forme d'un diagramme de Pareto des effets. Ils sont présentés dans les Figures 49 et 50 pour le moût et le vin respectivement. Le diagramme de Pareto est un graphique représentant l'importance de différentes causes à l'origine d'un phénomène. Ce diagramme permet de déterminer la valeur et l'importance d'un effet. Ce diagramme affiche la valeur absolue des effets et trace une ligne de référence sur le graphique (ligne rouge dans nos diagrammes). Tout effet qui s'étend au-delà de la ligne de référence peut être considéré comme important.

L'analyse des résultats sur moût (Figure 48) indique que tous les effets sont en dessous du seuil de référence. En théorie, aucun de ces paramètres n'aura d'effet sur le dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts.

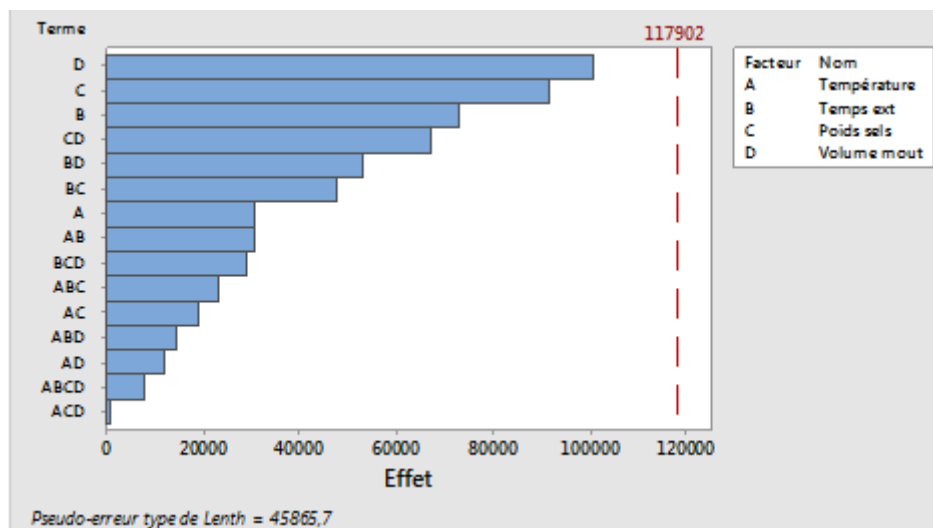


Figure 48 : Diagramme de Pareto des effets des paramètres d'extraction du moût (SPME) pour l'optimisation de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one

Les paramètres d'extraction générant le signal le plus intense dans le moût sont détaillés dans le Tableau 41. Cependant, dans la suite de nos travaux, des raisons d'ordre pratique nous ont conduits à réduire le volume de moût utilisé à 5 mL, sans toutefois modifier de façon préjudiciable le signal obtenu en CPG-SM-CI.

Tableau 41 : Paramètres d'extraction optimisés sur moût (SPME) pour la quantification de la (Z)-1,5-octadien-3-one en CPG-SM-CI

Facteurs	
Température d'incubation (°C)	50
Temps d'extraction (min)	30
Quantité de sels (g)	6
Volume d'échantillon (mL)	8

Concernant l'optimisation des conditions d'extraction de la (Z)-1,5-octadien-3-one du vin rouge (Figure 49), nous mettons en évidence que le volume de vin (D) ainsi que la quantité de sels (C) sont les deux paramètres de base susceptibles de modifier l'intensité du pic chromatographique. En effet, ces deux effets dissociés ou regroupés dépassent le seuil de référence.

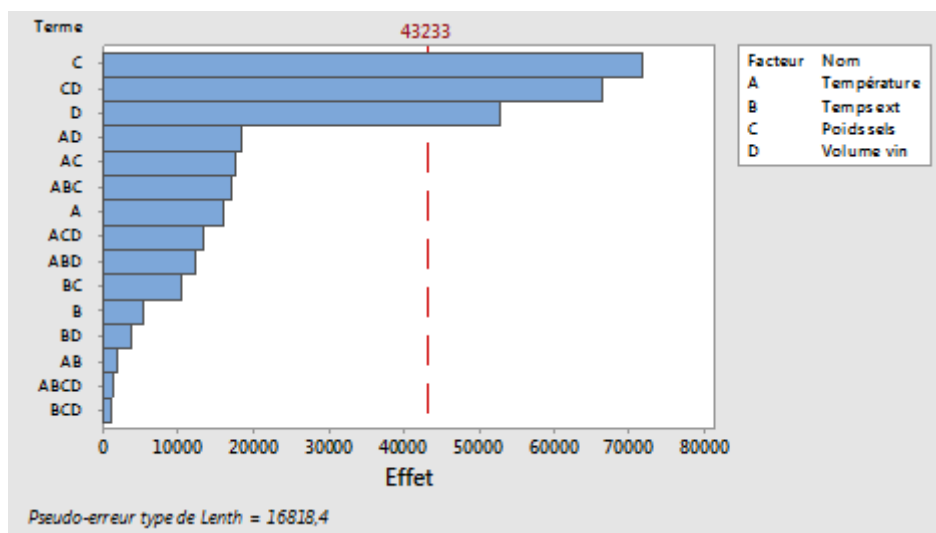


Figure 49 : Diagramme de Pareto des effets des paramètres d'extraction du vin (SPME) pour l'optimisation de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one

Les paramètres choisis pour l'extraction du vin sont présentés dans le Tableau 42.

Tableau 42 : Paramètres d'extraction du vin (SPME) pour la quantification de la (Z)-1,5-octadien-3-one en CPG-SM-CI

Facteurs	
Température d'incubation (°C)	50
Temps d'extraction (min)	30
Quantité de sels (g)	1
Volume d'échantillon (mL)	8

c) Optimisation des conditions d'analyse en spectrométrie de masse (trappe à ions)

Le chromatographe utilisé pour le dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one est équipé d'un analyseur à piégeage d'ions (trappe ionique). Les deux paramètres qui conditionnent la sensibilité de la détection en mode CI sont le temps de remplissage de la trappe ainsi que le courant d'émission (Pons *et al.*, 2011a). Tous deux ont été testés.

Les essais ont été réalisés sur moût et sur vin à partir des paramètres d'extraction SPME optimisés précédemment et dans les conditions chromatographiques détaillées dans la Partie 2.I.3.f).

Les tests sur l'incidence du temps de remplissage de la trappe ionique sur l'intensité du signal ont permis de montrer que sur les 4 temps testés (100 ms, 120 ms, 140 ms et 160 ms), le temps de remplissage optimal permettant d'obtenir un signal important tout en minimisant le bruit de fond est de 120 ms (résultat non présenté).

Les tests réalisés en faisant varier le courant d'émission entre 20 et 50 μA ont montré que le courant d'émission optimal était de 50 μA pour le dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one.

d) Courbes de calibration dans le moût

Une gamme étalon a été préparée pour des concentrations de (Z)-1,5-octadien-3-one comprises entre 0 et 480 ng/L. La gamme a été extraite par SPME à partir des paramètres choisis lors de l'optimisation de la méthode. L'étalon interne choisi pour la quantification est le 2-octanol. La séparation chromatographique est réalisée sur une colonne polaire de type BP20.

Une courbe d'étalonnage est ensuite construite sur la base d'une corrélation linéaire entre les concentrations et le rapport de l'aire du pic d'intérêt sur celle de l'étalon interne. La répétabilité a été déterminée à partir d'une série de 5 extractions. Les caractéristiques de la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans le moût sont résumées dans le Tableau 43.

Tableau 43 : Paramètres de la courbe de calibration de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts

Composé	Répétabilité	Courbe de calibration	R ²	Gamme de linéarité (ng/L)	LOQ (ng/L)	LOD (ng/L)
(Z)-1,5-octadien-3-one	7%	$y=3878,2x+25,223$	0,9914	20-480	20	5

L'ensemble de ces travaux valide donc la méthode de dosage de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts et les vins avec l'utilisation du 2-octanol comme étalon interne.

Des courbes de calibration sur vin ont été réalisées. Cependant, malgré l'optimisation de la méthode de dosage, les tests ne sont pas concluants ; nous manquons de sensibilité sur l'appareil.

3. Détermination des seuils de perception

Les seuils de perception extrêmement bas retrouvés dans l'eau dans la littérature nous ont conduits à reproduire ces seuils dans différents milieux. Pour ce faire, un panel de 21 dégustateurs de l'Unité de recherche Œnologie à l'ISVV a été sélectionné. Le seuil de perception a été déterminé dans un moût naturel ne contenant initialement pas de (Z)-1,5-octadien-3-one. Les résultats de l'analyse sensorielle sur milieux synthétiques et naturels sont présentés dans le Tableau 44.

Tableau 44 : Seuils de perception olfactive de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans un milieu synthétique de composition proche du moût (MS) et du vin (VS) et dans un moût naturel de Merlot

COMPOSE	Seuils de perception olfactive (ng/L)		
	MS	VS	Moût naturel
(Z)-1,5-octadien-3-one	0,0022	1,2	9

Les seuils reportés dans le Tableau 44 sont extrêmement bas. On observe que dans la solution modèle de moût, le seuil (0,0022ng/L) est plus bas que ceux reportés dans l'eau (environ 1 ng/L). Nous mettons en évidence un effet « salting out » dû à la présence de teneurs élevées en hexoses (glucose et fructose) dans le milieu synthétique. Le seuil de perception est de 9 ng/L dans un moût de Merlot.

4. Dosages dans les moûts

Nous avons dosé la (Z)-1,5-octadien-3-one dans de nombreux moûts de raisins marqués ou non par des nuances de fruits cuits (Chapitre 4, Tableau 32). A titre d'exemple nous présentons les profils chromatographiques de deux échantillons de moût analysés par CPG-SM-CI (Figure 50). Les teneurs retrouvées dans les moûts sont présentées dans la Figure 51. Les moûts témoins présentent des teneurs inférieures à 15 ng/L alors que ceux exprimant une odeur de fruits cuits peuvent contenir jusqu'à 100 ng/L. Bien entendu, les mécanismes de formation de ce composé dans les moûts sont inconnus à ce jour. Toutefois, la littérature scientifique nous enseigne que

ce composé est décrit comme produit de la dégradation oxydative d'un acide gras, l'acide eicosapentaénoïque (Norman *et al.*, 2000). A notre connaissance, cet acide n'a jamais été décrit dans les moûts et les vins. Aussi, il n'est pas exclu que de tels mécanismes puissent avoir lieu dans les baies de raisin et les moûts, témoignant ainsi d'une oxydation précoce de ses constituants.

Compte tenu de son seuil de perception dans les moûts (9 ng/L) cette cétone doit très probablement contribuer à l'arôme des moûts marqués par des arômes de fruits cuits. Toutefois, son arôme évoque clairement le géranium et non les fruits cuits. Aussi avons-nous étudié, d'un point de vue sensoriel, l'effet de la présence de ce composé sur l'arôme d'un moût.

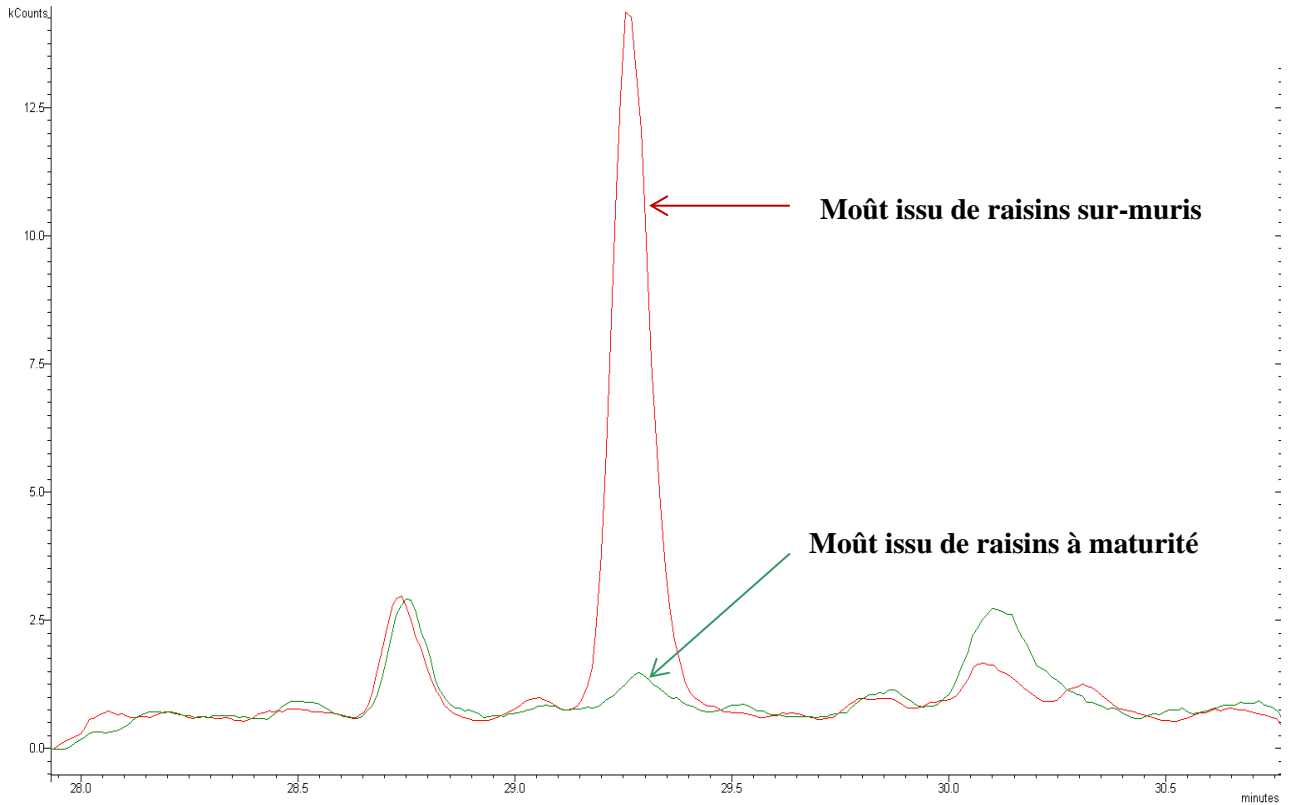


Figure 50 : Exemple de chromatogrammes d'un moût issu de raisins à maturité et d'un moût issu de raisins sur-muris (m/z 125)

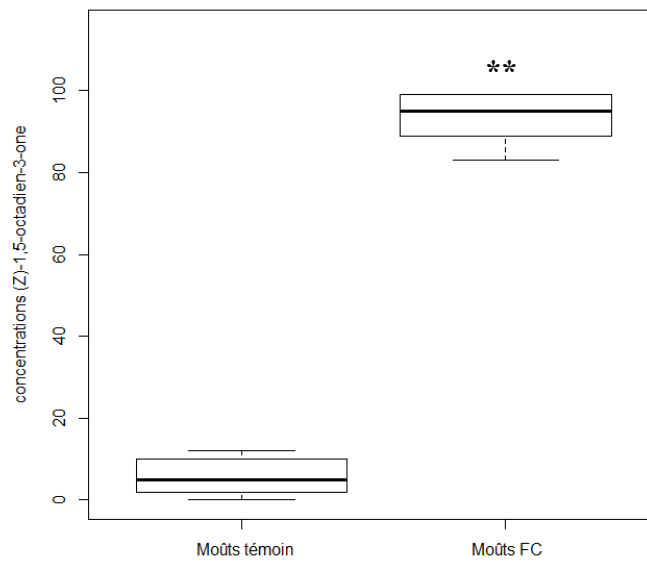


Figure 51 : Comparaison de la distribution des teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one des moûts marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)

5. Etude de l'impact organoleptique de la (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts

Nous avons supplémenté un moût témoin (Merlot, Pessac-Léognan), de concentrations croissantes en (Z)-1,5-octadien-3-one : 0, 32, 64, 96, 128 et 240 ng/L. Au préalable, le moût a été analysé pour s'assurer de l'absence de cette cétone. Le panel était composé de 16 dégustateurs de l'unité de recherche Œnologie (ISVV). Il était demandé au jury, de juger l'intensité des descripteurs « Rose », « Fraise, cassis », « Figue », « Géranium », « Herbacé » et « Foin » sur une échelle numérotée de 0 à 10 (Annexe 8).

Les descripteurs Rose, Fraise-Cassis, Herbacé et Foin sont généralement utilisés pour décrire l'arôme des moûts issus de raisins récoltés à maturité. Pour le descripteur de figue, il était précisé au panel que cela correspondait à la confiture de figue ou encore à la figue sèche, descripteurs utilisés pour définir l'arôme des moûts issus de raisins sur-muris. Enfin, le descripteur de géranium a été sélectionné car il correspond à l'odeur de la (Z)-1,5-octadien-3-one.

Les résultats de cette analyse sensorielle, traités statistiquement par l'ANOVA à l'aide du (logiciel R), ne montrent pas de différences significatives pour les odeurs de Rose, Fraise-cassis, Herbacé, et Foin. Dans les moûts, ce type d'odeur n'est pas associé à la présence de la (Z)-1,5-octadien-3-one.

En revanche, pour les odeurs de figue et de géranium, l'analyse statistique a mis en évidence des différences significatives entre les différents ajouts-dosés. Nous montrons que l'addition de 64 ng/L et 96 ng/L de (Z)-1,5-octadien-3-one à un moût (Figure 52), permet de modifier significativement l'odeur du moût vers des odeurs de figue. Au-delà de 96 ng/L, les odeurs de figue dans les vins diminuent significativement au profit des nuances de géranium (Figure 53). A l'inverse, l'intensité de ces nuances augmente selon de la teneur en (Z)-1,5-octadien-3-one du moût.

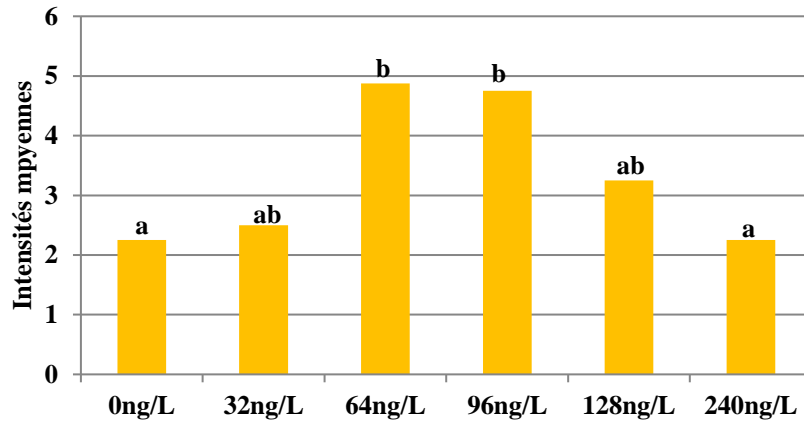


Figure 52 : Evolution de l'intensité moyenne du descripteur figue retrouvés dans les moûts selon la teneur en (Z)-1,5-octadien-3-one. Les lettres « a » et « b » correspondent aux résultats de l'ANOVA ($\alpha=0,05$).

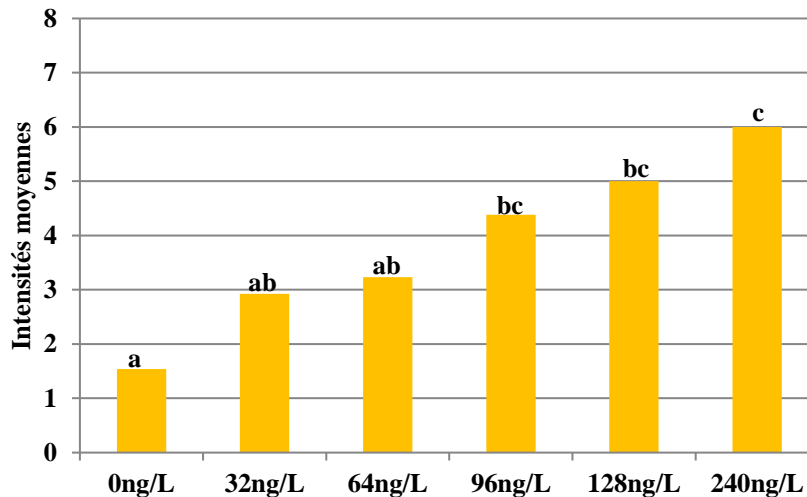


Figure 53 : Evolution de l'intensité moyenne du descripteur géranium retrouvés dans les moûts selon la teneur en de (Z)-1,5-octadien-3-one. Les lettres « a », « b » et « c » correspondent aux résultats de l'ANOVA ($\alpha=0,05$).

6. Incidence du dioxyde de soufre (SO₂) sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one des moûts

L'addition de dioxyde de soufre aux raisins fraîchement foulés est une pratique permettant de stabiliser les moûts vis-à-vis des mécanismes de dégradation oxydative et également de prévenir le développement de micro-organismes autres que *S. cerevisiae*. Le dioxyde de soufre est également capable de réagir avec les composés carbonylés pour former des adduits bisulfiteux les rendant non volatils et par conséquent inodores.

Les tests réalisés pour étudier l'incidence du sulfitage sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one ont été réalisés dans deux milieux : un milieu modèle de composition proche du moût et du vin. Le protocole est détaillé dans la Partie 2.II.. La teneur en dioxyde de soufre ajoutée (30 mg/L) correspond à la moyenne haute des teneurs retrouvées dans les moûts avant levurage. Après 7 jours, la (Z)-1,5-octadien-3-one est dosée dans les échantillons.

Les résultats sont présentés dans la Figure 54. On observe que le SO₂ entraîne une diminution très nette des teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one. Dans le moût, un apport en SO₂ de 30mg/L entraîne une diminution de ce composé de 60% et dans le vin cette diminution atteint 80%.

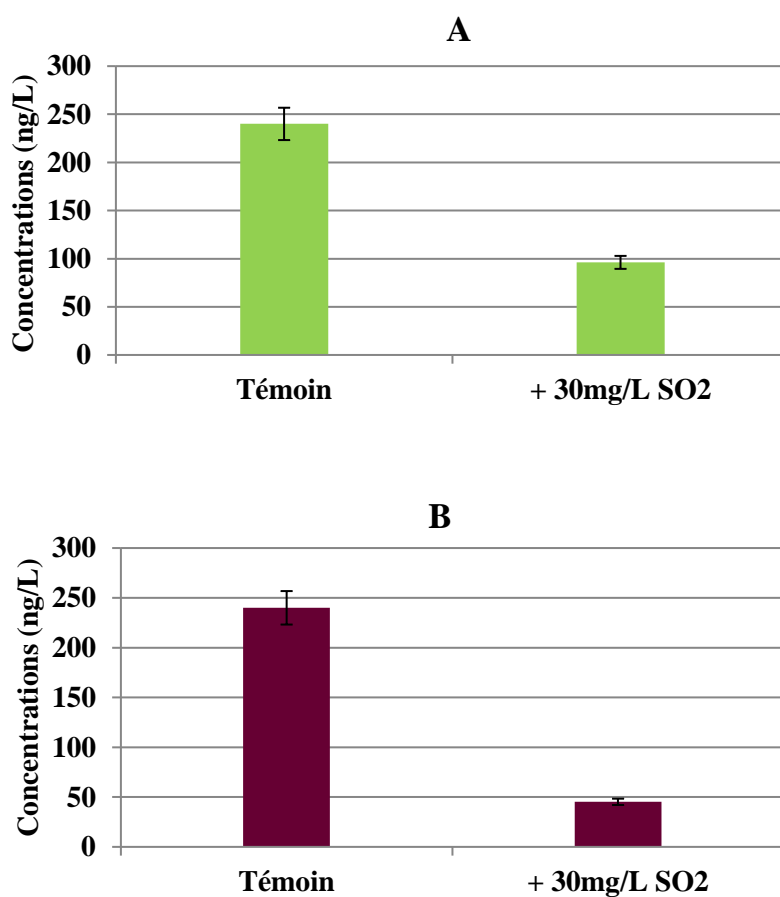


Figure 54 : Incidence du sulfitage sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one dans un milieu modèle de moût (A) et un milieu modèle de vin (B). n=2

II. Etude de la 3-methyl-2,4-nonanedione (ZO6 et ZO9)

1. Etude bibliographique

Ces deux zones odorantes correspondent aux deux tautomères de la 3-methyl-2,4-nonanedione ou MND (Figure 55), composé déjà décrit dans les vins rouges par Pons *et al.* (2008b). Ce composé fut décrit dans l'huile de soja et reporté pour la première fois dans la nature par Guth en 1989 (Guth *et al.*, 1989 ; Guth *et al.*, 1990 ; Guth *et al.*, 1999). Ensuite ce composé a été identifié dans le beurre en 1992 (Grosch *et al.*, 1992) et dans les anchois en 1995 (Triqui et Reineccius, 1995). Plus récemment, ce composé a été identifié dans le thé vert (Naef *et al.*, 2006) et dans le wasabi (*Wasabia japonica* Mastum.) (Nakanishu *et al.*, 2014).

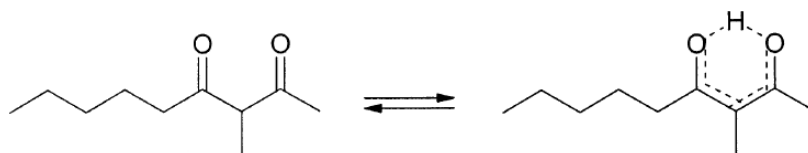


Figure 55 : Tautomérisme céto-énolique de la 3-methyl-2,4-nonanedione

Selon sa concentration et la matrice dans laquelle elle se trouve, différents descripteurs olfactifs sont utilisés. Ainsi, la MND a été décrite comme évoquant le foin dans le persil séché (Masanetz et Grosch, 1998) ou encore la paille dans l'huile de soja (Kao *et al.*, 1998). Elle est caractéristique des vins rouges prématurément vieillis (Pons *et al.*, 2008b) dont l'odeur rappelle le pruneau ou encore la figue (Pons *et al.*, 2013).

Ses seuils de perception sont très faibles : 0,005 ng/L dans l'air, 30 ng/L dans l'eau (Masanetz et Grosch, 1998) et 62 ng/L dans le vin (Pons *et al.*, 2013). Dans les vins rouges oxydés, la MND est présente à des concentrations de l'ordre d'une centaine de ng/L, très largement supérieures à son seuil de détection. On parle alors de composé d'impact. Très récemment, les premiers dosages de la MND ont suggéré son implication dans l'arôme du moût en lien avec une récolte tardive des raisins. Dans certains échantillons de moûts, ses teneurs dépassent son seuil de perception ($S_{p_{moût}}$ 62 ng/L).

Si l'origine de la MND dans les vins est à ce jour incertaine, Guth et Grosch (1991) ont montré que dans l'huile de soja, des acides gras furaniques (Furan Fatty Acid, FFA) formaient, lorsqu'ils étaient photooxydés, de la MND. Plus récemment, deux mécanismes chimiques, impliquant la photooxydation de la série des pentyl DiMeF, ont été proposés dans la littérature (Sigrist *et al.*, 2002).

Les mêmes auteurs ont identifié la MND dans le thé vert de Chine. Cette présence était associée à celle des FFA (Sigrist *et al.*, 2002). D'autre part, c'est dans le persil séché qu'a été identifiée la MND, comme composé principalement responsable de l'odeur de foin qui se dégage après le séchage. Là encore, la présence de FFA a été mise en évidence (Masanetz et Grosch, 1998). L'importance des traitements de la matière première dans la formation de la MND est également soulignée par ces auteurs.

Très récemment, les travaux de Pons *et al.* (2011c) reportent pour la première fois certains acides gras furaniques dans les vins rouges jeunes. Ces mêmes composés ne sont pas détectés dans les vins rouges oxydés. Retrouvés à des concentrations supérieures à 10 µg/L, ils pourraient être selon cet auteur des précurseurs potentiels de la MND dans ces vins.

2. Dosages dans les moûts et les vins

Les analyses quantitatives de la MND (Figure 56) dans les moûts et les vins témoin et FC montrent que les teneurs semblent être plus importantes dans les modalités marquées par des arômes de fruits cuits que dans les modalités témoin. Toutefois, nous montrons que ces différences ne sont pas significatives. L'analyse des résultats révèle également que cette dicétone est retrouvée, en moyenne, en quantités plus importantes dans les moûts que dans les vins. Compte tenu de la structure énoïque de ce composé, il n'est pas exclu que l'action de réductase levurienne puisse provoquer sa réduction en cétole voire en diol. De plus, les teneurs moyennes retrouvées dans les modalités FC sont supérieures aux teneurs des témoins bien qu'il n'y ait pas de différences significatives.

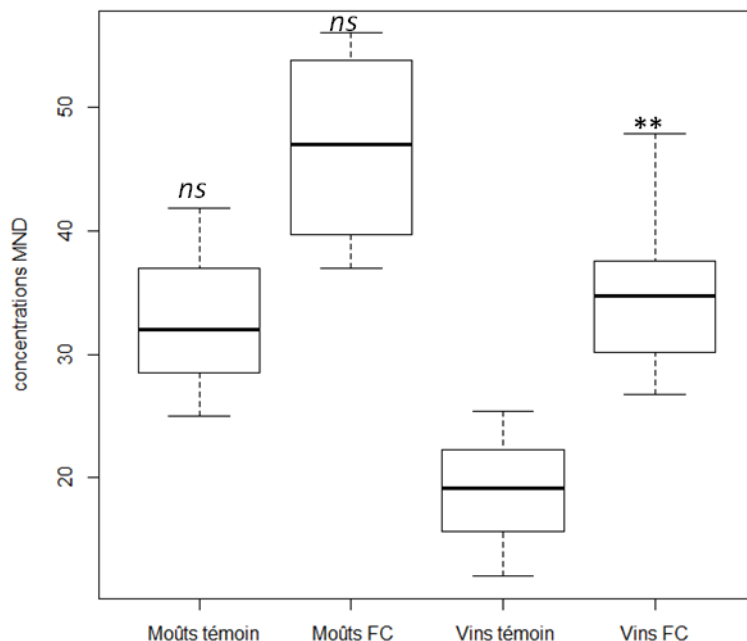


Figure 56 : Comparaison de la distribution des teneurs en MND des moûts et des vins marqués (FC) ou non (témoin) par des odeurs de fruits cuits (FC) (Représentation en « boîte à moustaches » de Tukey)

**** : différences significatives – ns : différences non significatives- Test ANOVA ($\alpha=0,05$)**

III. Conclusion

La (Z)-1,5-octadien-3-one est identifiée pour la première fois dans les moûts et les vins issus de raisins sur-muris. Ce composé, dont l'odeur évoque le géranium est extrêmement odorant comme en témoigne les valeurs des seuils de perception dans l'eau reportées dans la littérature (~ 1 ng/L). Nous avons déterminé son seuil de perception dans un moût naturel ; il est de 9 ng/L. Par la suite, nous avons mis au point et validé, sur la base de critères de linéarité, de sensibilité et de répétabilité, une méthode d'extraction par SPME et d'analyse par CPG-SM-CI. Les dosages réalisés dans les moûts marqués ou non par des odeurs de fruits cuits montrent que ce composé participe à cet arôme : dans ces moûts, les teneurs sont supérieures à 80 ng/L. D'autre part, nous montrons que la supplémentation de cette cétone à un moût exempt de nuances de fruits peut communiquer des tonalités aromatiques différentes selon sa concentration. A des teneurs comprises entre 64 et 96 ng/L, la (Z)-1,5-octadien-3-one confère au moût des odeurs de figue sèche. A l'inverse, le caractère géranium, propre à l'odeur de ce

composé, apparaît au-delà de ces concentrations. Enfin, nous précisons l'affinité de ce composé vis-à-vis du dioxyde de soufre.

Les analyses quantitatives de MND montrent que dans les moûts, les teneurs restent inférieures à son seuil de perception. A l'inverse, dans les vins les teneurs sont le plus souvent supérieures à son seuil de perception, d'autant plus lorsqu'ils sont marqués par des nuances de fruits cuits.

CHAPITRE 7

ETUDE SENSORIELLE ET ANALYTIQUE DE VINS EVOQUANT DES NUANCES DE FRUITS CUITS

Les résultats obtenus au cours des chapitres précédents, nous renseignent sur la diversité aromatique et pluralité des familles chimiques à l'origine des odeurs de fruits cuits rencontrées lors de la dégustation des moûts et des vins. Nous montrons qu'ils renferment certains composés clés appartenant à la famille des furanones (furanéol, homofuranéol) présentant des odeurs de caramel, des lactones dont l'odeur évoque la pêche cuite, ou encore des cétones pouvant rappeler le géranium ((Z)-1,5-octadien-3-one) ou le noyau de pruneau (MND).

La présence de ces composés de façon systématique dans les échantillons marqués par des nuances de fruits cuits a suscité notre intérêt. L'objectif de ce chapitre est dans un premier temps de décrire la composition en composés d'arôme de vins marqués ou non par des nuances de fruits cuits. Il s'agira par la suite de préciser la contribution du furanéol, de l'homofuranéol, de la γ -nonalactone et de la MND à l'arôme du vin rouge.

I. Protocole expérimental – Sélection de vins

L'analyse sensorielle de 16 vins a été réalisée en 2015 avec un panel composé de 16 experts ayant une bonne connaissance de la perception du caractère fruits cuits perçu dans les vins rouges. Le déroulement de la dégustation est détaillé dans la Partie 2.VII.3.b. Il était demandé à chaque sujet d'évaluer l'intensité des descripteurs fruits cuits et oxydé sur une échelle non structurée. Les échantillons de vin ont été analysés par CPG-SM pour la quantification des lactones, des furanones et de la MND.

La sélection des vins (Tableau 45) a été réalisée au cours d'un travail préliminaire dont l'objectif était de sélectionner des vins retrouvés dans le commerce selon l'expression plus ou moins intense des arômes de fruits cuits « V-C ». Ces vins sont volontairement issus de raisins récoltés tardivement voire sur-muris et répondent au projet esthétique du vinificateur. Par exemple, dans cette catégorie, nous retrouvons des vins d'Amarone issus de raisins passerillés (V-C1, V-C6), un vin californien (V-C7) et un vin Australien (V-C5) élaborés tous deux sous un climat chaud et sec. Les vins dits « témoins » appelés « V-T » sont des bons exemples de vins rappelant les fruits frais. La plupart de ces vins sont élevés en barrique de chêne pendant au moins 10 mois. Les millésimes sélectionnés sont compris entre 2008 et 2014.

Tableau 45 : Codes, provenance, composition de l'assemblage et millésimes des vins sélectionnés

Codes vins	Provenance	Cépages*	Millésimes
V-C1	Italie	100% NA	2010
V-C2	Saint-Emilion, France	100% M	2014
V-C3	Californie, USA	100% CS	2010
V-C4	Saint-Emilion, France	75% M-15% CS-10% CF	2010
V-C5	Australie	100% G	2008
V-C6	Italie	65%C-30%R-5%MO	2008
V-C7	Californie, USA	100% CS	2011
V-C8	Saint-Emilion, France	85% M-10% CS-5% CF	2014
V-C9	Californie, USA	100% Z	2010
V-C10	Saint-Emilion, France	65% M-25% CS-10% CF	2009
V-C11	Saint-Emilion, France	85% M-10% CS-5% CF	2010
V-T1	Entre-deux-mers, France	80% M-20% CS	2010
V-T2	Saint-Emilion, France	70% M-30% CS	2010
V-T3	Saint-Emilion, France	95% M-5% CS	2010
V-T4	Saint-Emilion, France	90% M-10% CS	2010
V-T5	Pessac-Léognan, France	64% CS-30% M-3% CF-3%	2010

PV

* A : Amarone – C : Corvina – CF : Cabernet Franc – CS : Cabernet-Sauvignon – G : Grenache – M : Merlot – MO : Molinara – NA : Negro Amaro – PV : Petit Verdot - R : Rondinella - Z : Zinfandel

II. Résultats de l'analyse sensorielle

Dans un premier temps, nous avons vérifié l'existence d'un consensus entre les juges pour l'évaluation des nuances de fruits cuits et oxydés.

1. Consensus entre les experts pour le jugement des nuances de fruits cuits

Le cercle de corrélation du jugement des vins sur le caractère fruits cuits (Figure 57) montre que tous les experts, à l'exception du sujet 11, sont placés du côté positif de l'axe 1 (F1) (représentant à lui seul 31,98% de la variance totale du jugement des nuances de fruits cuits). L'axe 2 (F2), représentant les variations interindividuelles de jugement, exprime 14,14% de la variance totale. Les sujets sont répartis tout au long de l'axe 2.

Il existe donc un consensus entre les juges pour l'évaluation des nuances de fruits cuits avec des différences interindividuelles marquées.

La carte des individus (vins) (Figure 57b) permet de montrer que les juges placent 4 vins témoins (V-T) sur 5 du côté négatif de l'axe 1 représentant les nuances de fruits cuits. On observe que les vins V-C6 et V-C9 sont placés au niveau le plus à droite de l'axe 1, ils sont perçus comme les plus intenses au niveau des nuances de fruits cuits. Le vin V-C10 est perçu comme le moins intense et est placé du côté négatif de l'axe 1.

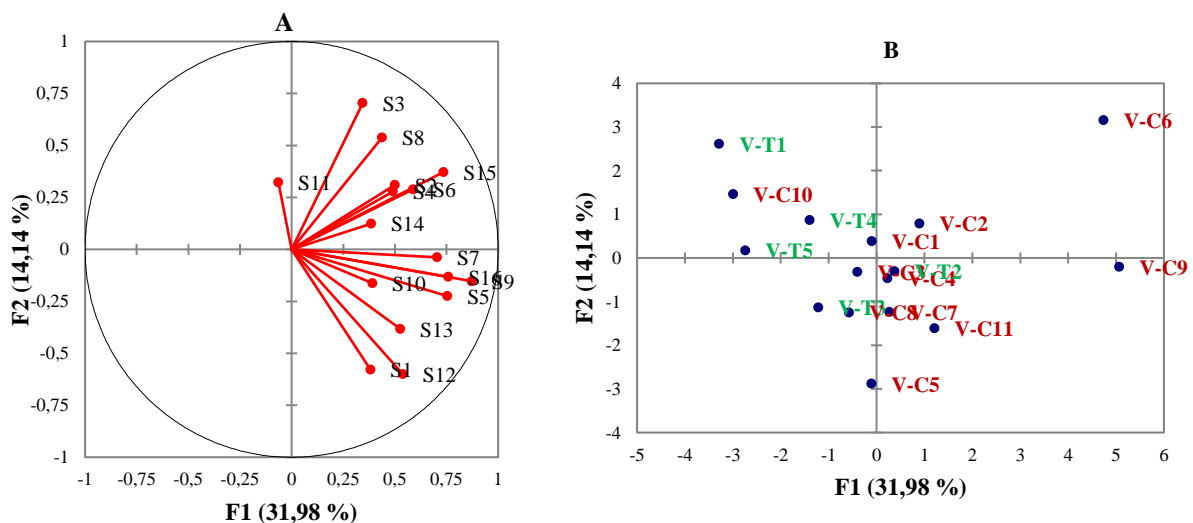


Figure 57 : Représentation de l'ACP des variables (jugement de l'intensité des nuances de fruits cuits) (A) et des individus (vins) (B).

2. Consensus entre les experts pour le jugement des nuances d'oxydation

Le cercle des corrélations du jugement des nuances d'oxydation (Figure 58a) permet de montrer que tous les experts (à l'exception du sujet 4) s'accordent sur les odeurs d'oxydation perçues

dans les vins puisqu'ils se situent du côté positif de l'axe 1 (F1) (représentant 27,59% de la variance totale). Tout comme pour les nuances de fruits cuits, les différences interindividuelles représentées sur l'axe 2 (F2) sont nombreuses.

Nous montrons qu'il existe un consensus entre les juges pour l'évaluation du caractère oxydé des vins.

La projection des vins (Figure 58b) montre que du côté positif, les vins V-C6, V-C3 et V-T1 sont discriminés par rapport aux autres et évoquent les nuances d'oxydation les plus intenses.

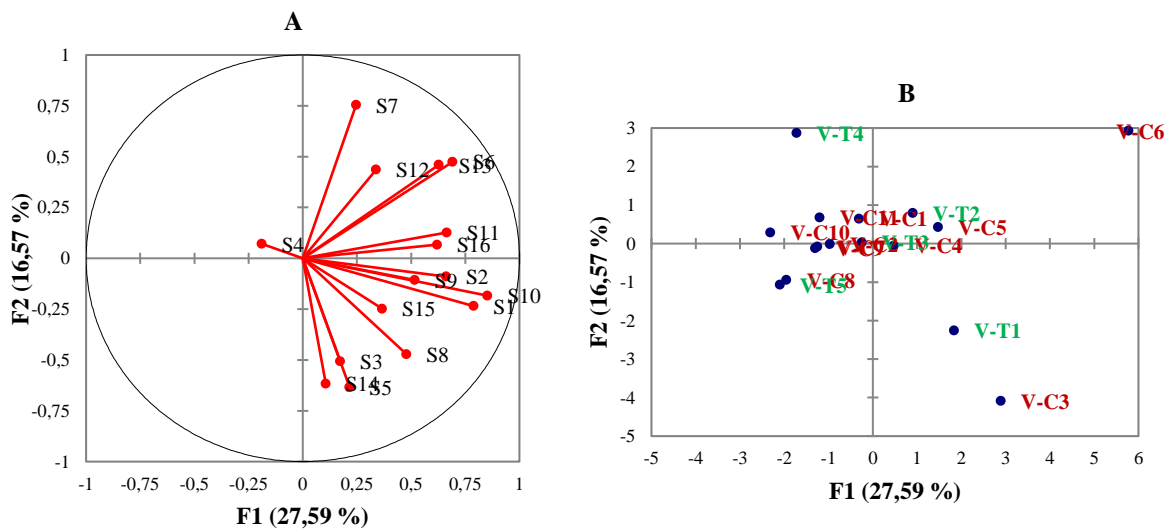


Figure 58 : Représentation de l'ACP des variables (jugement de l'intensité des nuances d'oxydation) (A) et des individus (vins) (B).

3. Profils sensoriels

Les intensités moyennes des nuances de fruits cuits et d'oxydation perçues dans les vins ont été classées par ordre croissant. Une analyse de variances (ANOVA) a été réalisée pour pouvoir discriminer les vins entre eux.

Les résultats (Figure 59) montrent qu'il existe des différences significatives entre les vins. Deux groupes se distinguent : un premier groupe (en vert) comportant les vins les moins intenses et un deuxième groupe (en rouge) comprenant les meilleurs exemples de vins caractéristiques des nuances de fruits cuits. Ainsi, dans la suite de notre travail, nous distinguerons arbitrairement les vins témoins dont la note moyenne du descripteur fruits cuits est strictement inférieure à 4

et les vins marqués par des nuances de fruits cuits (FC) dont les notes sont supérieures ou égales à 4.

Les vins présentant les intensités les plus élevées correspondent à des conditions d'élaboration particulières ; V-C6 et V-C9, proviennent d'Italie et de Californie respectivement. Le vin italien (V-C6) est un vin d'Amarone, issu de raisins passerillés. Le vin californien (V-C9) est issu du cépage Zinfandel et du millésime 2010, connu pour avoir été un millésime très chaud en Californie.

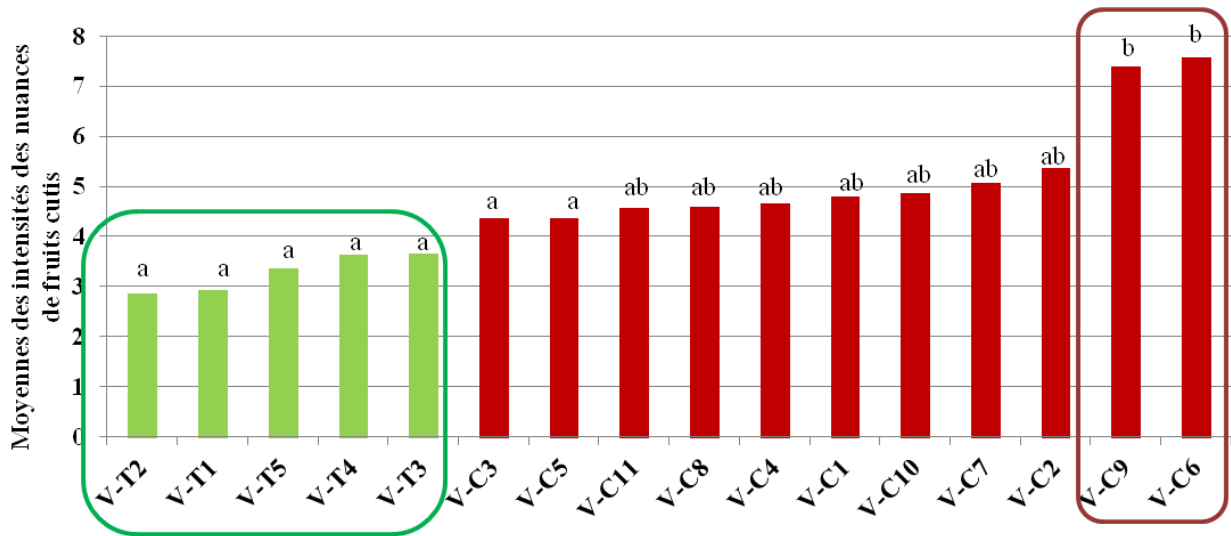


Figure 59 : Intensités moyennes des nuances de fruits cuits retrouvées dans les vins. Les résultats de l'analyse statistique (ANOVA) sont représentés par les lettres « a » et « b » ($\alpha=0,05$).

Les résultats de l'évaluation des intensités moyennes des nuances d'oxydation sont reportés en Figure 60. Nous montrons que le vin V-T2 est perçu comme le moins oxydé, le vin V-C6 comme le plus oxydé. Ces deux vins sont significativement différents. Ils figurent en tant que vins antagonistes sur la base de leur évaluation par ce descripteur.

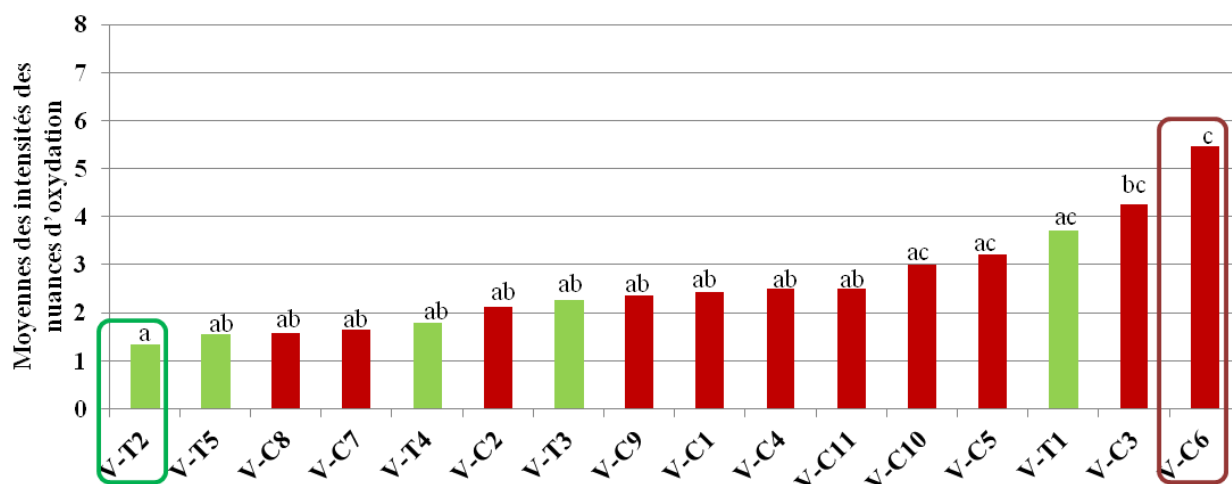


Figure 60 : Intensités moyennes des nuances d’oxydation retrouvées dans les vins. Les résultats de l’analyse statistique (ANOVA) sont représentés par les lettres « a », « b » et « c » ($\alpha=0,05$).

4. Etude de la contribution des composés volatils aux nuances fruits cuits et oxydés des vins

Les analyses quantitatives des vins ont été réalisées et sont présentées dans le Tableau 46. Les teneurs en furanéol sont toutes supérieures au seuil de perception et sont comprises entre 55 et 317 $\mu\text{g/L}$, soit des valeurs d’indice aromatique (IA, rapport entre la concentration du composé sur son seuil de perception en milieu modèle) comprises entre 1,1 et 6,5. Les concentrations les plus faibles sont retrouvées dans les vins dits témoin. Les concentrations en homofuranéol sont également retrouvées à des teneurs supérieures au seuil de perception dans 4 vins dits « cuits ». Dans le V-C9, la valeur de son IA est de 3,2. Les concentrations en MND et γ -nonalactone varient selon l’échantillon considéré mais restent le plus souvent inférieures aux seuils de perception. Les valeurs des rapports Aci/Aei du composé C-ZO19 présentent également une grande variabilité selon l’échantillon de vin. Les rapports les plus élevés sont retrouvés dans les modalités V-C dont l’odeur rappelle les fruits cuits. En revanche, les teneurs en δ -lactones sont très faibles et ne semblent pas être caractéristiques des échantillons V-C.

Tableau 46 : Teneurs en composés volatils des vins témoins (V-T) et des vins marqués par les nuances de fruits cuits (V-C)

VINS	MND (ng/L)	γ -nonalactone (μ g/L)	Massoia (μ g/L)	Furanéol (μ g/L)	Homofuranéol (μ g/L)	Aci/Aei C-ZO19	δ - déalactone (μ g/L)
V-C1	59,5 \pm 4,2	13,8 \pm 0,9	6,2 \pm 0,4	239,9 \pm 16,8	28,6 \pm 2	8,4 \pm 0,6	5,4 \pm 0,4
V-C2	13,5 \pm 0,9	11,7 \pm 0,8	10,6 \pm 0,7	57,9 \pm 4	9,1 \pm 0,6	3,8 \pm 0,3	4,7 \pm 0,3
V-C3	58,3 \pm 4	13,9 \pm 0,9	0,5 \pm 0	141,5 \pm 9,9	53,1 \pm 3,7	6,7 \pm 0,5	7,1 \pm 0,5
V-C4	62,1 \pm 4,3	7,2 \pm 0,5	0,5 \pm 0,04	150,9 \pm 10,6	2,6 \pm 0,2	0,9 \pm 0,06	8,3 \pm 0,6
V-C5	74,2 \pm 5,2	33,1 \pm 2,3	0,5 \pm 0,04	317,4 \pm 22,2	34,4 \pm 2,4	42,1 \pm 2,9	5 \pm 0,4
V-C6	55,1 \pm 3,9	19,3 \pm 1,4	8,9 \pm 0,6	206,3 \pm 14,4	16,2 \pm 1,1	2,5 \pm 0,2	4,1 \pm 0,3
V-C7	46,7 \pm 3,3	16,9 \pm 1,2	nd	123,7 \pm 8,7	9,9 \pm 0,7	13,4 \pm 0,9	7,6 \pm 0,5
V-C8	17,2 \pm 1,2	7,5 \pm 0,5	8,4 \pm 0,6	55,1 \pm 3,9	13,3 \pm 0,9	2,9 \pm 0,2	7 \pm 0,5
V-C9	52,3 \pm 3,7	27,9 \pm 1,9	nd	179,1 \pm 12,5	85,3 \pm 5,9	9,7 \pm 0,7	5,9 \pm 0,4
V-C10	38 \pm 2,7	18 \pm 1,3	3,7 \pm 0,3	129,1 \pm 9	3,5 \pm 0,3	2,6 \pm 0,2	7,1 \pm 0,5
V-C11	27,9 \pm 2	5,7 \pm 0,4	9,4 \pm 0,7	144,8 \pm 10,1	8,8 \pm 0,6	1,6 \pm 0,1	3,2 \pm 0,2
V-T1	52,4 \pm 3,7	9,1 \pm 0,6	1,8 \pm 0,2	48 \pm 4,6	16,8 \pm 1,2	6,4 \pm 0,4	2,8 \pm 0,2
V-T2	26,8 \pm 1,9	4,3 \pm 0,3	2,8 \pm 0,2	35 \pm 2,3	0,7 \pm 0,05	0,6 \pm 0,04	3,3 \pm 0,2
V-T3	40,3 \pm 2,8	6,9 \pm 0,5	5,2 \pm 0,4	32 \pm 8,4	3 \pm 0,2	2,3 \pm 0,2	1,7 \pm 0,1
V-T4	37,1 \pm 2,6	7,9 \pm 0,6	6 \pm 0,4	27 \pm 5,9	2,9 \pm 0,2	2,2 \pm 0,2	7 \pm 0,5
V-T5	55,7 \pm 3,9	7,1 \pm 0,5	1,6 \pm 0,1	65 \pm 6,2	3,3 \pm 0,2	2,3 \pm 0,2	7,2 \pm 0,5

Sp vin MND : 16 ng/L ; Sp vin γ -nona : 25 μ g/L ; Sp vin massoia : 56 μ g/L ; Sp vin furanéol : 49 μ g/L ; Sp vin homofuranéol : 26,5 μ g/L ;

Sp eau δ -déca : 100 μ g/L – nd : non détecté

Afin de nous aider dans l'interprétation des résultats de l'analyse sensorielle, et sur la base de la connaissance de la composition en composés odorants clés des nuances fruits cuits des vins, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée (Figure 61). L'ACP est très bien représentée, avec une variance totale de 62,55% ; l'axe 1 (F1) représentant 42,57% de la variance totale.

Sur la base de notre sélection de vins, dont les pratiques et les conditions climatiques sont parfois éloignées des conditions de vinifications traditionnelles à Bordeaux, nous montrons que l'évaluation de l'intensité des nuances de fruits cuits présente des similitudes à la détermination du caractère oxydé. D'autre part, le furanéol, le composé C-ZO19 et la γ -nonalactone sont bien corrélés entre eux et avec l'intensité des nuances de fruits cuits. En revanche, dans le cadre précis de cette sélection, la massoia lactone, la δ -déalactone, l'homofuranéol et la MND ne sont pas corrélés avec l'intensité des nuances de fruits cuits perçues dans les vins.

Cette analyse sensorielle, réalisée par un groupe restreint d'experts sur une sélection de vins particulièrement marqués par ces nuances de fruits cuits, met en évidence que des teneurs importantes en furanéol et γ -nonalactone et dans une moindre mesure, des teneurs plus importantes en composé C-ZO19 comparé aux vins témoin, seraient à l'origine des odeurs retrouvées dans ces vins.

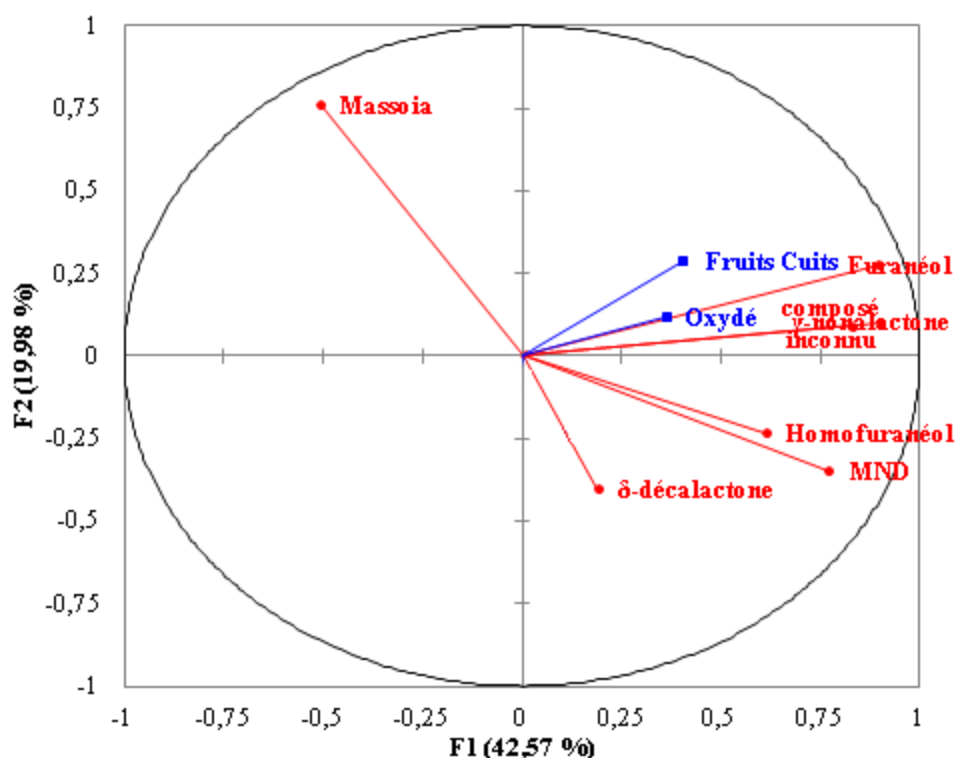


Figure 61 : Analyse en composantes principales des composés volatils (variables actives) avec les descripteurs de l'analyse sensorielle (variables supplémentaires).

III. Mise en évidence de la contribution du furanéol, de l'homofuranéol, de la γ -nonalactone et de la MND à l'arôme des vins marqués par des nuances de fruits cuits

1. Sélection des marqueurs analytiques

Tout au long de ces travaux, nous avons mis en évidence des composés volatils dont l'odeur évoquait celle des vins aux odeurs de fruits cuits. Cependant, nous avons montré que certains

d'entre eux, dont les teneurs étaient parfois inférieures à leur seuil de perception, ne pouvaient contribuer directement à ces nuances.

Les effets de synergie du furanéol et de l'homofuranéol présentés précédemment, ainsi que les effets de synergie connus des lactones (Jarauta *et al.*, 2006), nous ont conduits à étudier l'impact sensoriel de l'ajout de ces molécules dans une matrice de vin rouge.

Dans un premier temps, nous avons réalisé des tests statistiques sur les résultats des analyses quantitatives présentées précédemment (Tableau 46). Un traitement statistique de type ANOVA ($\alpha=0,05$) a été réalisé sur la base des concentrations moyennes des composés d'intérêt retrouvées dans les 5 vins témoins (V-Témoin) et les 11 vins évoquant des nuances de fruits cuits (V-Cuit). Les résultats, présentés dans la Figure 62, montrent que seuls la γ -nonalactone, le furanéol et l'homofuranéol peuvent discriminer les vins témoins des vins fruits cuits.

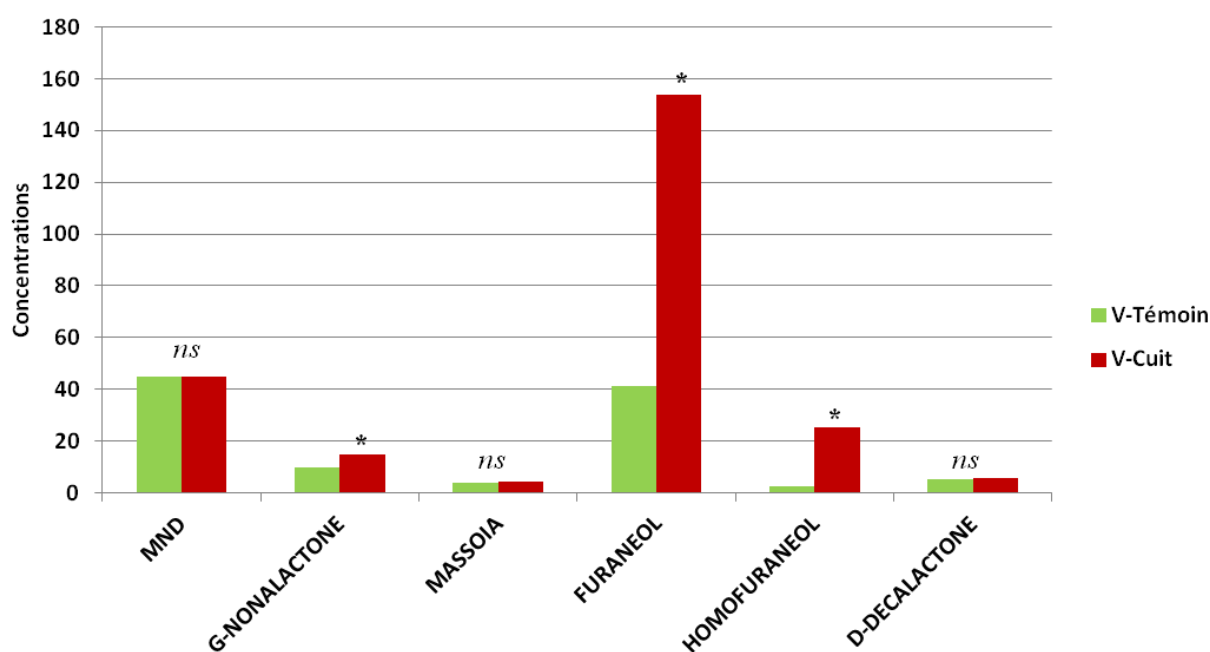


Figure 62 : Concentrations moyennes en MND (ng/L), γ -nonalactone ($\mu\text{g/L}$), massoia lactone ($\mu\text{g/L}$), furanéol ($\mu\text{g/L}$), homofuranéol ($\mu\text{g/L}$) et δ -décylactone ($\mu\text{g/L}$) retrouvées dans les vins témoins (V-Témoin, n=5) et les vins fruits cuits (V-Cuit, n=11)

*** : différences significatives (ANOVA- $\alpha=0,05$) – ns : non significatif**

2. Protocole expérimental

Nous avons choisi de réaliser les tests de reconstitution en supplémentant directement les composés d'intérêt à un vin rouge. Le vin « témoin » choisi est le V-T2 de l'échantillonnage précédent. Nous avons choisi ce vin car parmi les 16 vins dégustés, c'est celui qui présente les nuances de fruits cuits les moins intenses (Figure 59).

Nous proposons d'étudier les propriétés olfactives des deux furanones (furanéol et homofuranéol) ainsi que de la γ -nonalactone. Aussi, dans la mesure où les travaux de Pons *et al.* (2008b) ont mis en évidence que la MND était corrélée à l'arôme de fruits cuits des vins prématurément vieillis, nous avons choisi d'inclure également cette cétone à nos expériences de reconstitutions aromatiques. Au final, nous nous sommes intéressés à l'influence de ces 4 composés seuls ou en mélange, soit 14 combinaisons possibles. Toutefois, afin de limiter le nombre d'essais et sur la base de la similitude de leurs propriétés chimiques et olfactives, nous avons fait le choix de regrouper les deux furanones.

Au final nous présentons dans ce travail exploratoire, l'évaluation de l'impact organoleptique de 2 composés de la famille des furanones, seuls ou en mélanges sur l'expression des nuances de fruits cuits de plusieurs échantillons.

Pour ce faire, nous avons ajusté les concentrations en composés odorants du vin V-T2 avec celles du vin V-C9. Le vin V-C9 était considéré comme l'un des deux vins présentant les nuances de fruits cuits les plus intenses. Les concentrations des deux vins sont présentées dans le Tableau 47.

Tableau 47 : Teneurs en composés volatils retrouvées dans le vin témoin V-T2 et le vin fruits cuits V-C9

Vins	MND (ng/L)	γ -nonalactone (μ g/L)	furanéol (μ g/L)	homofuranéol (μ g/L)
V-T2	26,8	4,3	35	0,7
V-C9	52,3	27,9	179,1	85

Sur la base de ces teneurs, les 4 modalités présentées au panel sont les suivantes :

- Modalité 1 : vin témoin supplémenté en MND (concentration totale : 52,3 ng/L)

- Modalité 2 : vin témoin supplémenté en γ -nonalactone (LACT) (concentration totale : 27,9 $\mu\text{g/L}$)
- Modalité 3 : vin témoin supplémenté en furanones (furanéol et homofuranéol) (FUR) (concentrations totales : 179,1 $\mu\text{g/L}$ et 85 $\mu\text{g/L}$ respectivement)
- Modalité 4 : vin témoin supplémenté en MND, γ -nonalactone et furanones (à des teneurs similaires aux autres modalités)

Le panel était composé de 15 experts en dégustation, tous membres de l'ISVV. Chaque dégustateur devait juger l'intensité des nuances de fruits cuits des cinq échantillons sur une échelle discontinue de 0 à 100 mm (0 : peu intense ; 100 : très intense).

3. Résultats

Les résultats sont présentés dans la Figure 63. Nous montrons par l'analyse statistique de type ANOVA que des différences existent entre les modalités. L'addition de MND à une concentration inférieure à son seuil de perception dans les vins (Sp 62 ng/L) ne semble pas modifier l'intensité du caractère fruits cuits de la modalité 1. En revanche, la reconstitution aromatique regroupant les quatre composés volatils est celle qui présente l'intensité du descripteur fruits cuits la plus importante. En effet, lors de l'analyse sensorielle, l'odeur perçue dans cet échantillon rappelle nettement les odeurs de fruits cuits rencontrées dans le vin V-C9.

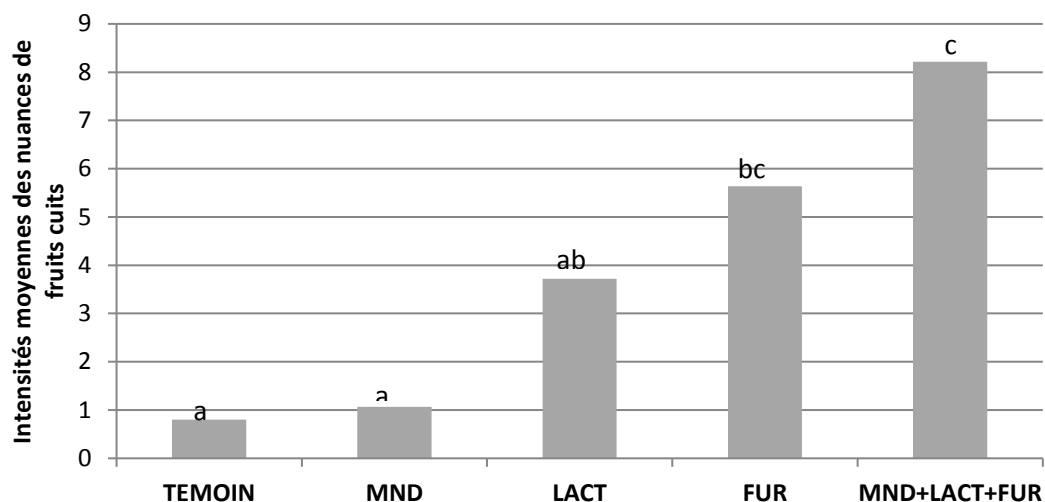


Figure 63 : Intensités moyennes des nuances de fruits cuits dans les 4 reconstitutions aromatiques et traitement statistique par une ANOVA ($\alpha=0,05$).

IV. Conclusion

Dans ce travail, nous avons demandé à un panel d'experts d'évaluer l'intensité des descripteurs fruits cuits et oxydé d'une sélection de 16 vins rouges. Certains d'entre eux étaient issus de la vinification de raisins passerillés, d'autres provenaient de régions chaudes et sèches. Les dosages des composés d'intérêt ont également été effectués.

Après un travail d'évaluation du consensus du panel de dégustateurs, nous avons pu confirmer le lien entre l'intensité de ces nuances et les concentrations en composés d'intérêt tels que le furanéol, l'homofuranéol et la γ -nonalactone. Les expériences complémentaires de reconstitutions aromatiques nous ont permises de valider l'intérêt que nous avons porté à ces composés. L'addition d'un mélange de MND, de γ -nonalactone, de furanéol et d'homofuranéol, à des concentrations retrouvées dans les vins « fruits cuits », à un vin exempt de ces nuances, permet de recréer distinctement cette tonalité aromatique.

PARTIE 4

INFLUENCE DES PARAMETRES AGRONOMIQUES SUR LA FORMATION DES ODEURS DE FRUITS CUITS DES MOUTS ET DES VINS

CHAPITRE 8

ETUDE DE L'EXPOSITION A LA LUMIERE AU COURS DU PASSERILLAGE DES BAIES SUR L'AROME DES MOULTS ET DES VINS

Les conditions de maturation des raisins vont conditionner la qualité de la récolte, et au final la qualité des vins. Aussi, les conditions climatiques propres à chaque millésime sont des éléments imprévisibles et indissociables auxquels le viticulteur et l'œnologue doivent faire face ; elles donnent naissance à ce que nous appelons communément l'effet millésime. Parmi les paramètres climatiques qui vont influencer sur la qualité des vins : la température, le statut hydrique, et la lumière jouent un rôle de premier ordre. Dans ce chapitre, une attention particulière sera portée sur l'étude de la lumière sur l'expression aromatique des raisins et des vins. Les effets du rayonnement lumineux sont connus : en excès ils peuvent provoquer brûlure et dessèchement, alors qu'en son absence, les baies accusent un retard de maturité en conservant un caractère végétal important (Berger, 2007).

L'objet de ce chapitre est d'étudier en conditions contrôlées au laboratoire l'influence du passerillage en présence ou non de lumière sur l'arôme des raisins et des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon. Une approche analytique, nous renseignant sur l'impact de ces traitements sur la concentration en composés d'intérêt précédemment identifiés, viendra compléter notre étude.

I. Protocole expérimental

Nous avons mis en place un protocole de passerillage des baies au laboratoire. Cette méthode, permettant de sur-mûrir artificiellement les baies dans une enceinte climatisée, nécessite le contrôle de la luminosité, de la température et de l'hygrométrie. Tous les paramètres choisis pour cette expérience sont décrits dans la Partie 2.IV. Nous avons réalisé cette expérience 4 fois au laboratoire afin de confirmer nos résultats ; nous en présenterons une seule dans ce chapitre.

La comparaison des chromatogrammes des moûts et des vins issus de raisins sur-mûris au laboratoire (Chapitre 4, Tableau 32) avec ceux obtenus à partir de raisins sur-mûris naturellement, montre que le protocole de passerillage permet de reproduire ce qu'il se passe en champ lorsque se produit le passerillage des baies. Afin d'étudier l'incidence de la lumière sur le flétrissement des baies, la moitié des baies est placée dans l'obscurité et l'autre moitié est exposée à la lumière. Les baies, disposées sur des plateaux, sont bien séparées les unes des autres afin d'assurer une bonne circulation de l'air pour éviter le développement de *Botrytis cinerea*. Les plateaux sont pesés quotidiennement. La perte de poids à partir de laquelle les

échantillons sont retirés de l'étuve est de 30 %. Elle correspond, d'après nos expériences préliminaires de passerillage en laboratoire, à celle associée à un développement marqué par des odeurs de fruits cuits retrouvés lors de la dégustation des raisins et des moûts. Ainsi, une fois passerillées, les baies sont foulées manuellement sous azote. La teneur en azote assimilable est ajustée dans les moûts à 180 mg/L avant l'ensemencement des levures (Partie 2.V.1).

Les analyses sensorielles, les dosages œnologiques courants des moûts et des vins de Merlot et Cabernet-Sauvignon ainsi que les dosages de la 3-méthyl-2,4-nonanedione, des lactones, des furanones et du composé C-ZO19 ont été réalisés ; ils sont présentés ci-dessous. La dénomination des échantillons dans les figures et tableaux qui figurent ci-après est détaillée dans le Tableau 48.

Tableau 48 : Dénomination des échantillons

Echantillons	Cépage	Type	Origine des baies
M-moût-Tem	Merlot	Moût	baies à maturité optimale
M-moût-L+	Merlot	Moût	baies passerillées à la lumière
M-moût-L-	Merlot	Moût	baies passerillées dans l' obscurité
CS-moût-Tem	Cabernet-Sauvignon	Moût	baies à maturité optimale
CS-moût-L+	Cabernet-Sauvignon	Moût	baies passerillées à la lumière
CS-moût-L-	Cabernet-Sauvignon	Moût	baies passerillées dans l' obscurité
M-vin-Tem	Merlot	Vin	baies à maturité optimale
M-vin-L+	Merlot	Vin	baies passerillées à la lumière
M-vin-L-	Merlot	Vin	baies passerillées dans l' obscurité
CS-vin-Tem	Cabernet-Sauvignon	Vin	baies à maturité optimale
CS-vin-L+	Cabernet-Sauvignon	Vin	baies passerillées à la lumière
CS-vin-L-	Cabernet-Sauvignon	Vin	baies passerillées dans l' obscurité

II. Incidence du passerillage au laboratoire sur la physionomie des baies

En moyenne, le temps nécessaire passé dans l'étuve pour une perte de poids de 30% est de 3,5 jours pour les baies de Merlot et 5 jours pour les baies de Cabernet-Sauvignon. Dès le deuxième jour passé dans l'étuve, la modification de l'aspect des baies est remarquable pour le Merlot tandis que pour les baies de Cabernet-Sauvignon, la modification de l'aspect des baies est observée à partir de 3 jours dans l'étuve. Nous n'avons pas observé de différences visuelles sur le flétrissement des baies flétries à la lumière et dans l'obscurité. Les moûts ont une odeur caractéristique de fruits cuits et de pruneau, plus intense dans ceux de Merlot.

III. Incidence du passerillage sur la composition des moûts et des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon

Les paramètres œnologiques courants des moûts de Merlot et Cabernet-Sauvignon issus des raisins sur-muris artificiellement ont été mesurés par le laboratoire SARCO. Ils sont détaillés ci-dessous.

Tableau 49 : Incidence du passerillage sur la composition des moûts de Merlot et Cabernet-Sauvignon

Echantillons		pH	Sucres (g/L)	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide malique (g/L)	Azote assimilable (mg/LN)
M	Tem	3,95	201	1,92	1,64	43
	L+	3,99	349	2,14	2,90	59
	L-	3,83	341	2,71	2,98	36
CS	Tem	3,69	190	3,60	3,75	99
	L+	3,55	279	6,28	6,46	125
	L-	3,56	279	4,89	5,36	84

Des différences marquées des paramètres œnologiques sont apparues après le flétrissement. On montre que le passerillage des baies entraîne une augmentation artificielle des teneurs en sucres réducteurs, ainsi qu'une augmentation de l'acidité totale et de l'acide malique. Les travaux de Roujou de Boubée *et al.* (2000) avaient montré que l'acide malique est accumulé par biosynthèse au cours de sa croissance herbacée ; puis sa quantité par baie ainsi que sa concentration diminuent au cours de la maturation. Nous observons ici le phénomène inverse ; cela est dû à la concentration des composés lors du flétrissement des baies dans l'étuve. Aussi, on montre que la maturité du Merlot est plus avancée que celle du Cabernet-Sauvignon ; en effet, les teneurs en sucres retrouvées dans les raisins de Merlot sont supérieures à celles du Cabernet-Sauvignon et les teneurs en acide malique, inférieures à celles retrouvées dans les modalités de Cabernet-Sauvignon.

Les raisins obtenus ont été microvinifiés au laboratoire. Les teneurs en sucres réducteurs des échantillons issus de raisins passerillés sont très importantes. Aussi, afin que les conditions de fermentation soient similaires et que celles-ci arrivent à leur terme, nous avons ajusté les teneurs à celles du témoin par addition d'eau. Ce facteur de dilution est pris en compte dans tous les résultats des dosages présentés par la suite.

IV. Incidence de la présence de lumière au cours du passerillage des baies sur l'expression aromatique des moûts et des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon

Les analyses sensorielles sous forme de profils sensoriels des moûts et des vins ont été réalisées selon le protocole détaillé dans la Partie 2.VII.3.a. Il était demandé aux 21 dégustateurs (unité de recherche œnologie à l'ISVV) du panel de juger sur une échelle de notation structurée de 0 (= moins intense) à 10 (= plus intense) l'intensité des nuances fruits cuits, végétales et fruits frais. Les nuances de fruits cuits rappellent plutôt la figue, le pruneau ou encore la pêche cuite. Les nuances végétales évoquent le poivron vert et le lierre ; les nuances de fruits frais les fruits rouges frais tels que la mûre ou encore le cassis.

1. Résultats de l'analyse sensorielle des moûts

Les résultats de l'analyse sensorielle des moûts de Merlot et de Cabernet-Sauvignon sont présentés dans les Figures 64 et 65.

Concernant les moûts de Merlot (Figure 64), on observe un effet lumière important. En effet, la conservation des raisins en présence d'un rayonnement lumineux se rapprochant de celui de la lumière naturelle a un impact significatif sur l'intensité des nuances végétales, fruits frais mais aussi fruits cuits des moûts : les nuances végétales sont atténuées tandis que les nuances de fruits frais mais surtout de fruits cuits sont plus intenses et significativement différentes de la modalité témoin.

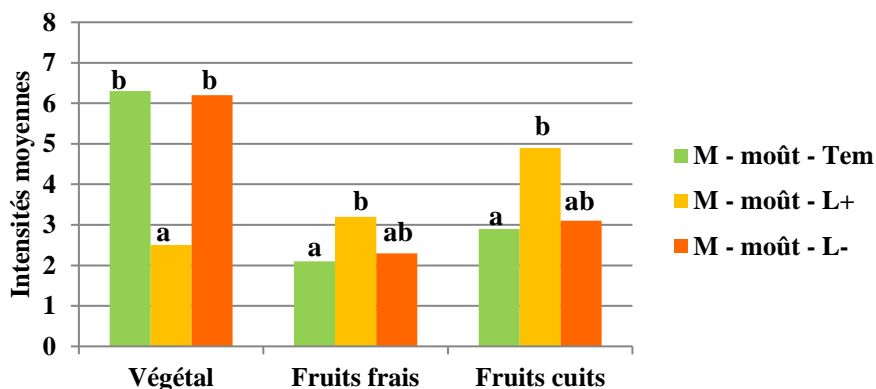


Figure 64 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts issus de raisins de Merlot conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle. Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21

Dans les moûts de Cabernet-Sauvignon (Figure 65), l'effet de la lumière lors du passerillage n'a pas d'incidence sur les nuances végétales et fruits cuits des moûts issus de raisins sur-muris. En revanche, le passerillage, avec ou sans lumière, entraîne une diminution significative de l'intensité des nuances végétales et une augmentation significative de l'intensité des nuances de fruits cuits. Le passerillage n'a pas d'impact sur les nuances de fruits frais.

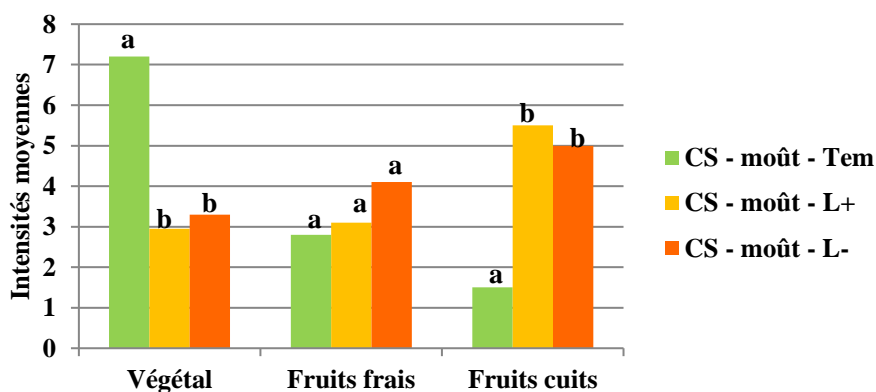


Figure 65 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts issus de raisins de Cabernet-Sauvignon conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle. Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21

2. Résultats de l'analyse sensorielle des vins

L'ensemble des moûts obtenus, dont les teneurs en sucres ont été ajustées à celle de la modalité non passerillée par dilution, ont été vinifiés au laboratoire selon le protocole décrit dans la Partie 2.V.1. Les résultats de l'analyse sensorielle des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon sont présentés dans les Figures 66 et 67.

Nous montrons que les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon ne peuvent être différenciés selon l'intensité des nuances végétales et fruits frais. En revanche, le passerillage entraîne une augmentation significative de l'intensité des nuances fruits cuits perçues à la dégustation. Placés dans nos conditions expérimentales, les vins de Merlot vont acquérir ces nuances à la faveur de la présence de lumière alors que pour les vins de Cabernet-Sauvignon, le passerillage à l'abri de la lumière semble favoriser leur présence.

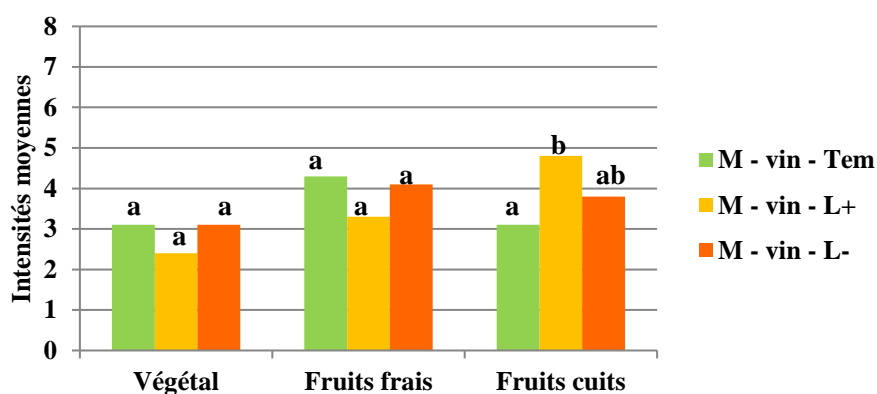


Figure 66 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des vins issus de raisins de Merlot conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5journs) en présence ou non de lumière artificielle. Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21

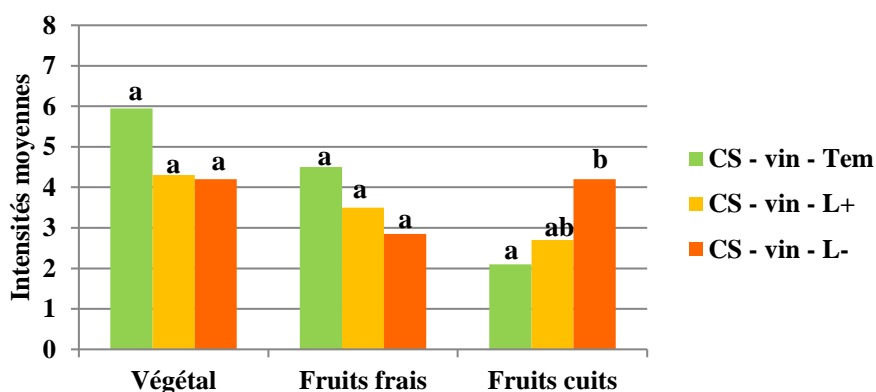


Figure 67 : Intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des vins issus de raisins de Cabernet-Sauvignon conservés dans une étuve (30°C, HR 30%, 3,5jours) en présence ou non de lumière artificielle Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=21

V. Incidence de la présence de lumière au cours du passerillage des baies sur les teneurs en composés volatils des moûts et des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon

Afin d'étudier l'impact de la lumière au cours du passerillage des baies sur la formation de composés volatils spécifiques dans les moûts et les vins, des analyses quantitatives par CPG-SM des composés volatils précédemment identifiés ont été réalisées et des tests statistiques de type ANOVA ont été appliqués. Les résultats sont présentés ci-dessous.

1. La 3-methyl-2,4-nonanedione

Les dosages de la MND dans les moûts et les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon sont présentés dans le Tableau 50.

Tableau 50 : Teneurs en MND dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

Echantillons		MND (ng/L \pm écart type)	
		Moûts	Vins
M	Tem	52,7 \pm 11,5 ^a	10,4 \pm 0,6 ^a
	L+	79,9 \pm 3,5 ^b	8,4 \pm 1,7 ^a
	L-	53 \pm 2,4 ^a	14,8 \pm 1 ^a
CS	Tem	36,5 \pm 0,5 ^b	22,5 \pm 0,2 ^a
	L+	18,9 \pm 0,2 ^a	18,3 \pm 1,2 ^a
	L-	20,17 \pm 3,3 ^a	21 \pm 1,5 ^a

Pour le Merlot, nous montrons que la lumière a une incidence sur les teneurs en MND dans les moûts puisque dans cette modalité sa teneur atteint 80 ng/L, dépassant ainsi son seuil de perception dans le moût (62 ng/L). A l'inverse, les concentrations retrouvées dans les vins sont faibles (< 15 ng/L) et inférieures au seuil de perception (16 ng/L) ; de plus, aucune différence significative apparaît dans les échantillons de vins. Selon Pons (communication personnelle), l'explication de cette observation correspond à la réduction de la MND en hydro-cétones sous l'action du métabolisme levurien.

Dans le Cabernet-Sauvignon, le passerillage des baies avec ou sans lumière n'a pas d'incidence sur la formation de la MND. Après fermentation alcoolique, comme dans les modalités Merlot, les teneurs diminuent dans le vin témoin tandis qu'elles restent constantes et faibles dans les deux autres modalités.

2. Les furanones

Le furanéol et l'homofuranéol ont été quantifiés dans les moûts et les vins issus de raisins sur-muris de Merlot et de Cabernet-Sauvignon et les résultats des dosages sont présentés dans le Tableau 51.

Tableau 51 : Teneurs en furanéol et homofuranéol dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). nd : non détecté. n=4

Echantillons	Furanéol ($\mu\text{g/L} \pm \text{écart type}$)		Homofuranéol ($\mu\text{g/L} \pm \text{écart type}$)		
	Moûts	Vins	Moûts	Vins	
M	Tem	nd ^a	6,4±1 ^a	nd ^a	nd ^a
	L+	18,8±1,5 ^b	49,7±3,4 ^c	4,08±0,3 ^b	3,4±0,1 ^b
	L-	3,37±0,3 ^a	36,3±2,8 ^b	5,8±0,5 ^b	1,6±0,6 ^{ab}
CS	Tem	nd ^a	11,8±0,8 ^a	6,14±0,4 ^a	6,6±0,5 ^a
	L+	14,7±1 ^b	26,3±1,84 ^b	9,2±0,6 ^b	12,5±0,9 ^b
	L-	4,4±0,3 ^a	12,9±0,9 ^a	10,1±0,7 ^b	13±0,9 ^b

Les résultats des analyses quantitatives du furanéol montrent que le passerillage a un effet positif sur la formation du furanéol dans les moûts de Merlot et Cabernet-Sauvignon. Absent du moût témoin, c'est le passerillage qui va provoquer sa formation dans les moûts. En outre, la présence de lumière permet d'accentuer significativement ce phénomène. Dans cette modalité, le furanéol est retrouvé à des concentrations supérieures au seuil de perception dans les moûts (10,5 $\mu\text{g/L}$). Il doit très probablement contribuer à l'arôme de fruit cuit de cet échantillon. Comme nous l'avons montré dans le Chapitre 4, le métabolisme levurien favorise la formation de furanéol. Les teneurs en furanéol sont plus importantes dans les vins issus de raisins sur-muris et l'effet est significativement plus marqué dans les vins issus de raisins sur-muris à la lumière. Ainsi, le furanéol participe directement à l'arôme des moûts et des vins issus de raisins sur-muris à la lumière.

Le passerillage des baies favorise également la production d'homofuranéol dans les moûts de Merlot et Cabernet-Sauvignon. Les teneurs retrouvées dans les moûts sont proches du seuil de perception voire plus élevées dans les moûts de Cabernet-Sauvignon (seuil de perception en solution modèle de moût : 5,5 $\mu\text{g/L}$). Ce composé pourrait donc avoir un impact sur l'expression

aromatique des moûts issus de raisins sur-muris. En revanche, dans les vins, on observe que les teneurs diminuent sensiblement après la fermentation alcoolique dans les vins de Merlot alors que dans les vins de Cabernet-Sauvignon, les teneurs ont légèrement augmenté. Elles demeurent largement inférieures à son seuil de perception dans le vin (26,5 µg/L) et compromettent son implication directe à l'arôme fruits cuits des vins. Enfin, nous montrons que dans nos conditions expérimentales, la lumière ne modifie pas la cinétique de formation de ce composé au cours du passerillage.

3. Les lactones

Les lactones ont été dosées. Les résultats présentés dans le Tableau 52 sont ceux des lactones dont les teneurs varient suivant les modalités.

Tableau 52 : Teneurs en γ -nonalactone et δ -décalactone dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). nd : non détecté. n=4

Echantillons		γ -nonalactone (µg/L ± écart type)		δ -décalactone (µg/L ± écart type)	
		Moûts	Vins	Moûts	Vins
M	Tem	nd ^a	12±0,5 ^a	nd	nd ^a
	L+	2,8±0,2 ^a	49,2±2,5 ^b	nd	5,5±0,8 ^b
	L-	2,8±0,1 ^a	25,1±0,1 ^a	nd	9,5±0,7 ^b
CS	Tem	nd ^a	8,2±0,6 ^a	nd ^a	4,4±0,3 ^a
	L+	1,14±0,4 ^a	21,2±1,5 ^b	5,9±0,1 ^b	8,6±0,6 ^b
	L-	nd ^a	12,6±1,4 ^a	4±1 ^b	12,4±0,9 ^b

Les résultats des teneurs en γ -nonalactone montrent que, dans les moûts, le passerillage entraîne la formation de ce composé qui reste absent des moûts témoins. Cependant, les concentrations retrouvées sont très faibles. Nous n'observons pas d'effet lumière sur ses teneurs dans les moûts. Nos résultats nous révèlent également que ce composé est produit au cours de la fermentation alcoolique et ceci de façon significativement plus importante dans les modalités passerillées en présence de lumière. Dans les vins de Merlot, les teneurs dépassent son seuil de perception (25 µg/L) à l'inverse des vins de Cabernet-Sauvignon où sa concentration maximale atteint seulement 21,2 µg/L.

Absente dans les moûts de Merlot, la δ -décalactone est retrouvée spécifiquement dans ceux de Cabernet-Sauvignon élaborés à partir de raisins sur-muris. Dans les vins, ce composé est majoritaire dans les modalités sur-muries. En revanche, les concentrations retrouvées dans les vins sont largement inférieures au seuil de perception qui est de 100 $\mu\text{g/L}$ (Gemmert, 2003).

4. La massoia lactone

Les dosages de la massoia lactone dans les moûts et les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon (Tableau 53) indiquent que ce composé est majoritairement présent dans le Merlot puisque l'on obtient des teneurs supérieures à 10 $\mu\text{g/L}$ dans les moûts et 100 $\mu\text{g/L}$ dans les vins (seuil de perception : 56 $\mu\text{g/L}$). Etonnamment, cette lactone insaturée présente un comportement singulier par rapport à ses homologues saturées. En effet, contrairement aux autres lactones étudiées, l'absence de lumière au cours du passerillage favorise significativement la formation de massoia lactone dans les moûts et les vins. Enfin, comme nous l'avons observé pour les autres lactones, le métabolisme levurien participe à la formation de la massoia lactone dans les vins.

Tableau 53 : Teneurs en massoia lactone dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). nd : non détecté. n=4

Echantillons		Massoia lactone ($\mu\text{g/L} \pm$ écart type)	
		Moûts	Vins
M	Tem	nd ^a	20,3 \pm 6,1 ^a
	L+	3 \pm 0,2 ^a	10,9 \pm 2,3 ^a
	L-	40,3 \pm 3 ^b	113,3 \pm 22 ^b
CS	Tem	nd ^a	2,3 \pm 0,2 ^a
	L+	2,2 \pm 0,2 ^b	4,5 \pm 0,4 ^a
	L-	3,6 \pm 0,3 ^b	29,1 \pm 2,3 ^b

5. La (Z)-1,5-octadien-3-one

Les dosages de la (Z)-1,5-octadien-3-one ont été réalisés dans les moûts de Merlot et Cabernet-Sauvignon (Tableau 54). En effet, la méthodologie employée utilisant une extraction par SPME

et une analyse par CPG-SM-CI, n'est pas assez sensible pour détecter cette cétone dans les vins. Il est largement retrouvé dans le Merlot puisque ses concentrations dans les modalités sur-muries sont supérieures à 250 ng/L. Dans toutes les modalités, les teneurs sont supérieures au seuil de perception dans un milieu modèle de moût (0,0022 ng/L). Par conséquent, son impact sur l'arôme des moûts doit certainement être de premier ordre. On remarque que la lumière au cours du passerillage ne modifie pas les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one.

Tableau 54 : Teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

Echantillons		(Z)-1,5-octadien-3-one
		(ng/L \pm écart type)
Moûts		
M	Tem	10,1 \pm 0,2 ^a
	L+	279,3 \pm 13,9 ^b
	L-	252,4 \pm 12,6 ^b
CS	Tem	5 \pm 0,2 ^a
	L+	25,5 \pm 1,3 ^b
	L-	8,4 \pm 0,4 ^b

6. Le composé associé à la ZO19 (C-ZO19)

Le travail préliminaire d'identification ne nous a pas permis de remonter jusqu'à la structure de ce composé. Ainsi, à titre exploratoire, ce travail reporte les rapports « aire du composé C-ZO19 » sur « étalon interne ». Ils concernent l'analyse des moûts et des vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon (Tableau 55).

Tableau 55 : Rapport de l'aire du composé C-ZO19 (A_{ci}) sur l'aire de l'étalon interne (A_{ei}) dans les moûts et les vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS) issus de

raisins témoin (Tem), de raisins sur-muris à la lumière (L+) et dans l'obscurité (L-). Les lettres « a », « b », « c » correspondent au traitement statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

Echantillons		C-ZO19 (A_{ci}/A_{ei})	
		Moûts	Vins
M	Tem	nd ^a	4,2±1,2 ^a
	L+	18,8±1,2 ^b	130,7±18,2 ^c
	L-	1,35±0 ^a	66,5±4,7 ^b
CS	Tem	nd ^a	11,6±0,8 ^a
	L+	18,1±1,7 ^c	49,9±3,5 ^b
	L-	6,3±0,7 ^b	14,9±1,8 ^a

Absent dans le moût témoin de Merlot, nos conditions expérimentales de passerillage permettent sa production. La présence de la lumière favorise sa formation dans la baie de Merlot. Après la FA, les teneurs retrouvées sont plus importantes. Dans les vins, la lumière conserve un effet positif sur la formation de ce composé.

Dans le Cabernet-Sauvignon, on observe les mêmes tendances : un effet positif du passerillage ainsi que de la lumière sur la production de ce composé. Au cours de la FA les précurseurs sont transformés et l'effet positif de la lumière sur la formation de ce composé est conservé. Dans nos conditions expérimentales, nous observons également que le Merlot contient les teneurs les plus importantes.

7. Conclusion

En conclusion de ces analyses quantitatives, nous avons bien mis en évidence que le passerillage favorise la formation de la γ -nonalactone, la δ -décalactone, le furanéol, l'homofuranéol, la massoia lactone, la (Z)-1,5-octadien-3-one et le C-ZO19 dans les moûts ; cependant, seules les concentrations en furanéol, homofuranéol, massoia lactone et (Z)-1,5-octadien-3-one sont supérieures aux seuils de perception dans les moûts. Ensuite, dans les vins, le passerillage des raisins a un effet positif sur les teneurs en furanones, lactones et C-ZO19 ; les concentrations du furanéol, de la massoia lactone et de la γ -nonalactone retrouvées dans les vins de Merlot sont supérieures aux seuils de perception dans les vins. La présence de lumière

au cours du passerillage des baies favorise la formation de MND dans les moûts de Merlot, de γ -nonalactone dans les vins, et de furanéol et de C-ZO19 dans les moûts et les vins. En revanche, l'absence de lumière favorise la formation de massoia lactone dans les moûts et les vins. Globalement, les teneurs retrouvées sont plus importantes dans les moûts et les vins élaborés à base de Merlot. Cependant, les maturités des deux modalités étaient différentes ; le Merlot étant dans un état de maturité plus avancée que le Cabernet-Sauvignon. Nous mettons clairement en évidence un effet cépage quant à la formation de composés volatils spécifiques du passerillage des baies dans les moûts et les vins.

VI. Incidence du passerillage des baies sur la distribution des énantiomères des lactones dans les moûts et les vins

Il a été montré dans la partie précédente que la γ -nonalactone et la massoia lactone pouvaient être retrouvées dans les vins issus de raisins sur-muris à des teneurs supérieures à leur seuil de perception. D'autre part, le passerillage a un effet positif sur la formation de la δ -décalactone. En revanche, les teneurs retrouvées pour cette dernière sont inférieures au seuil de perception. L'impact direct de ces composés sur les nuances de fruits cuits n'était donc pas strictement validé.

Il est acquis que les γ -lactones et les δ -lactones, possédant un carbone asymétrique peuvent exister sous les formes énantiomériques *R* et *S*. Au cours de cette étude, la distribution des énantiomères des lactones dans les moûts et les vins issus de raisins sur-muris a donc été étudiée. La détermination des seuils de perception des énantiomères de la γ -nonalactone a complété ce travail.

1. Détermination de la configuration absolue des lactones et aspects analytiques

Toutes les méthodes utilisées pour l'obtention des énantiomères des lactones décrites jusqu'ici sont effectuées par voies chimiques (Cooke *et al.*, 2009). La difficulté de mise en œuvre de ces protocoles nous a conduits à chercher une méthode permettant de séparer les énantiomères des

lactones à partir de sa préparation commerciale. La technique de chromatographie préparative en phase liquide (CLHP) est couramment utilisée pour réaliser ce type de séparation.

Nous avons sous-traité la séparation des énantiomères de la γ -nonalactone à la société Chiral Technologies (Chiral Technologies Europe, France).

La colonne préparative utilisée (Chiralpak® AS-H 5 μ m) possède les dimensions suivantes : 250x20 mm. La phase mobile est composée d'un mélange binaire n-Heptane/Ethanol (98/2). Le débit est de 20 mL/min. La température de 25°C est maintenue constante durant la séparation. Dans ces conditions analytiques, le profil de séparation de la γ -nonalactone commerciale racémique en CHLP est présenté en Figure 68.

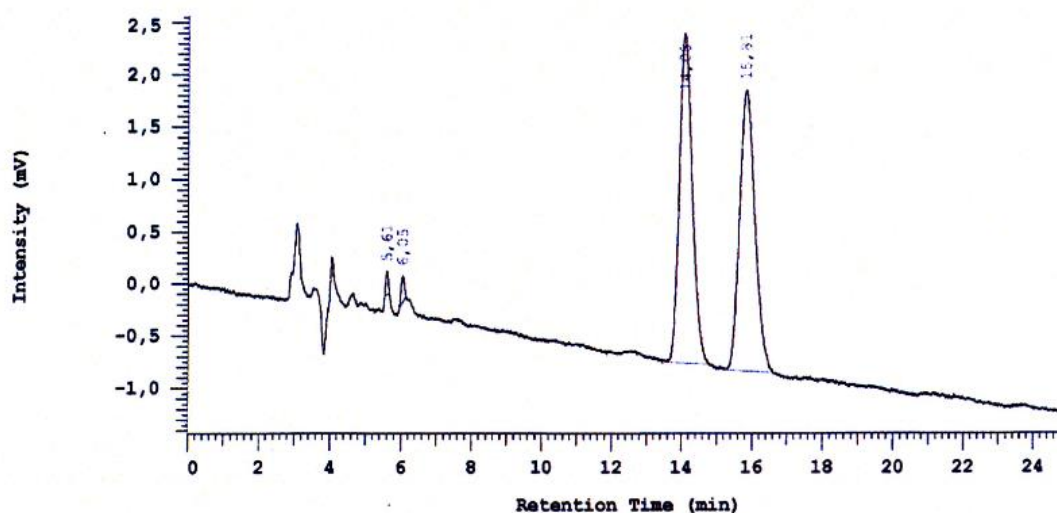


Figure 68 : Profil de séparation de la γ -nonalactone commerciale racémique en CLHP sur colonne chirale

Les excès énantiomériques calculés pour les deux énantiomères dénommés pic 1 et pic 2 en CLHP sont supérieurs à 99,5%. Nous avons repris les deux échantillons, de 60 mg chacun dans du méthanol (5mL) et nous les avons ensuite analysés par polarimétrie. Nous avons comparé les valeurs obtenues à celles de la littérature (Mosandl et Günther, 1989) afin d'assigner à chacun des pics la configuration absolue de la γ -nonalactone. Une fois obtenus, chacun des énantiomères a été injecté séparément en CPG-multidimensionnelle chirale afin d'attribuer chacun de ses énantiomères aux deux pics de la γ -nonalactone.

Etant donné que l'ordre d'éluion des énantiomères des lactones est similaire en conditions chromatographiques identiques (Mosandl et Günther, 1989), nous avons attribué la forme énantiomérique de la δ -décalactone par analogie à ceux de la γ -nonalactone (Figure 69).

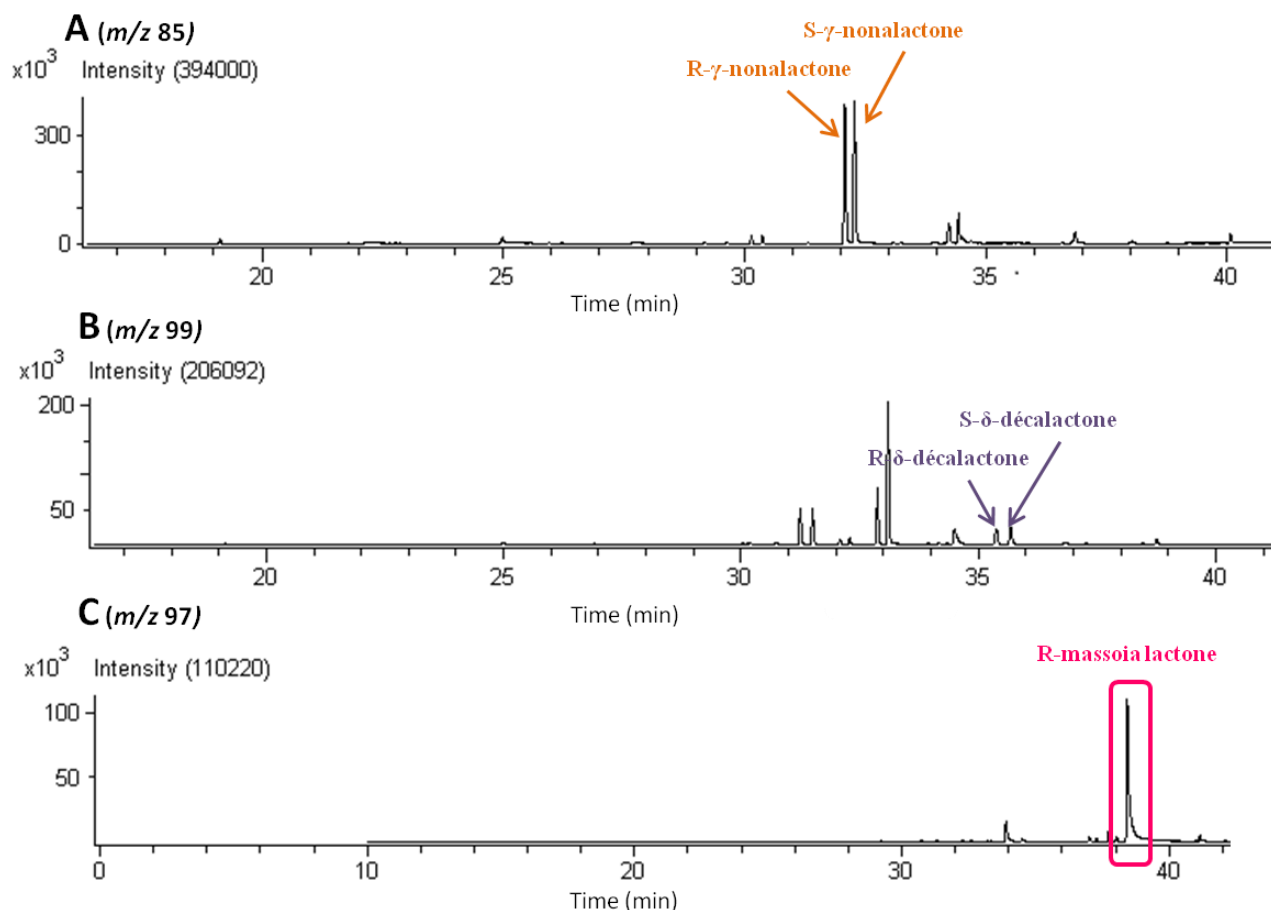


Figure 69 : Exemple de séparation des énantiomères de la γ -nonalactone (A), δ -décalactone (B) et de la massoia lactone par couplage CPG-CPG-SM (colonne chirale) d'un extrait d'un échantillon de moût.

2. Distribution des énantiomères des lactones dans les moûts et les vins issus de raisins passerillés

Nous avons évalué la distribution des énantiomères des lactones présents dans les échantillons de moûts et de vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon issus du passerillage des raisins en laboratoire. Les résultats de la γ -nonalactone, la γ -décalactone ainsi que ceux de la δ -

décalactone sont présentés ci après. Les résultats de la massoia lactone ne sont pas présentés puisqu'elle est présente dans les moûts et les vins uniquement sous la forme *R* (Figure 69).

a) La γ -nonalactone

La distribution des énantiomères de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon est représentée dans les Figures 70 et 71.

On peut observer que dans les moûts et les vins de Merlot (Figure 70) et de Cabernet-Sauvignon (Figure 71), la forme *R* est majoritaire (>70%). Ces résultats sont en accord avec ceux retrouvés dans la littérature pour les ratios énantiomériques des lactones dans les fruits (Chapitre 5) où le pourcentage de la forme *R* varie entre 64 et 93% suivant les fruits. Dans les raisins, la forme *R* est très majoritaire (>90%) alors que dans les vins cette distribution oscille entre 67% et 75%. Nous montrons que le passerillage a un impact modéré sur la distribution des énantiomères de la γ -nonalactone.

Nous montrons également que la forme *R* est prépondérante dans le raisin et que le métabolisme de *Saccharomyces cerevisiae* semble biosynthétiser la γ -nonalactone majoritairement sous forme *R* et dans une moindre mesure sous forme *S*. Ce résultat illustre les travaux réalisés par Garbe *et al.* (2005) sur l'origine des énantiomères de la γ -nonalactone dans la bière qui avaient montré que selon l'action de la 13-lipoxygénase et de la 9-lipoxygénase les formes (*S*) ou (*R*) pouvaient être majoritaires. En conditions œnologiques, nous montrons que la levure *Saccharomyces cerevisiae* produit la γ -nonalactone avec un ratio énantiomérique (*R*)/(*S*) moyen de 70%/30%. Cette distribution est indépendante du cépage.

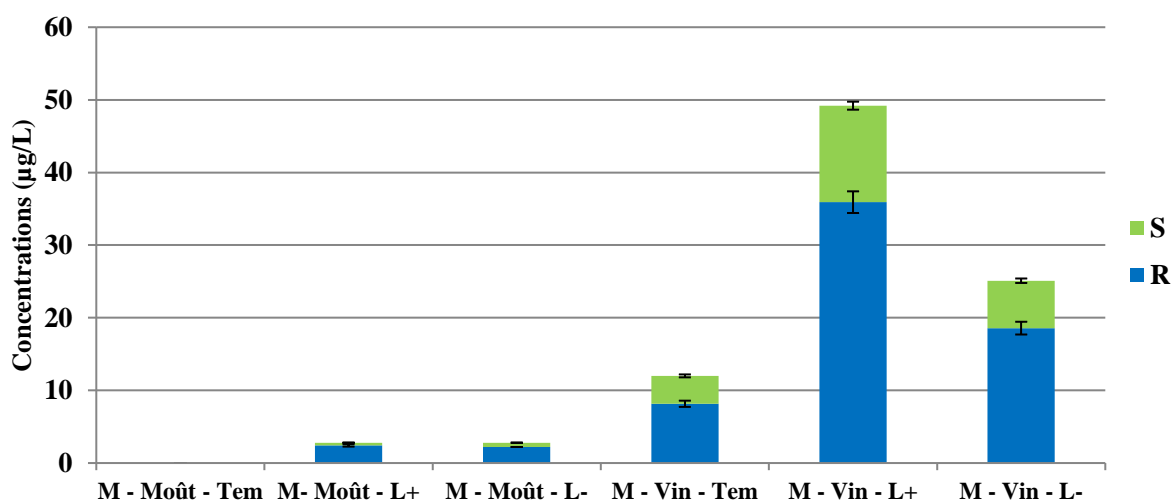


Figure 70 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Merlot sur la distribution énantiomérique de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins. n=2

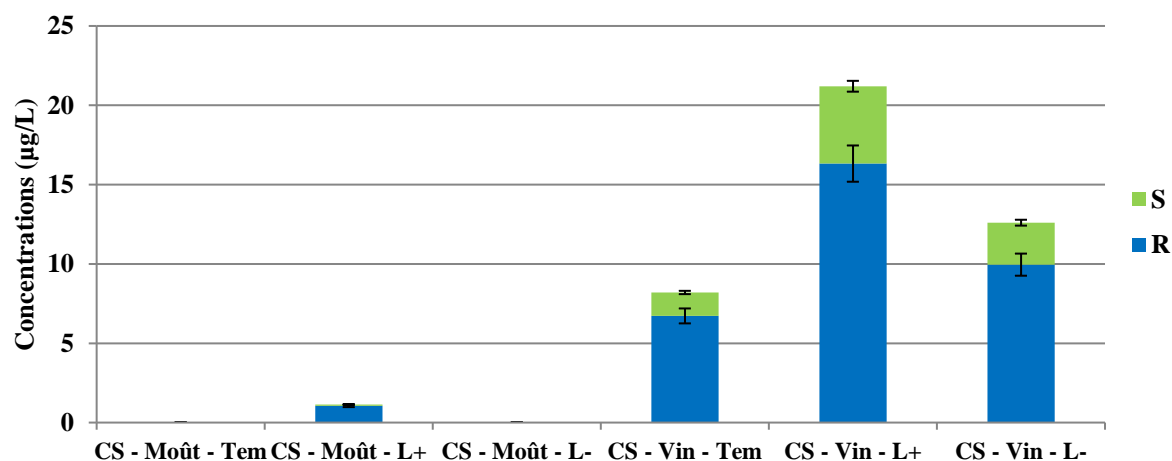


Figure 71 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Cabernet-Sauvignon sur la distribution énantiomérique de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins. n=2

b) La δ -décalactone

La distribution des énantiomères de la δ -décalactone dans les moûts et les vins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon est représentée dans les figures 72 et 73.

On observe dans les vins de Merlot (Figure 72) que la forme *R* est systématiquement majoritaire.

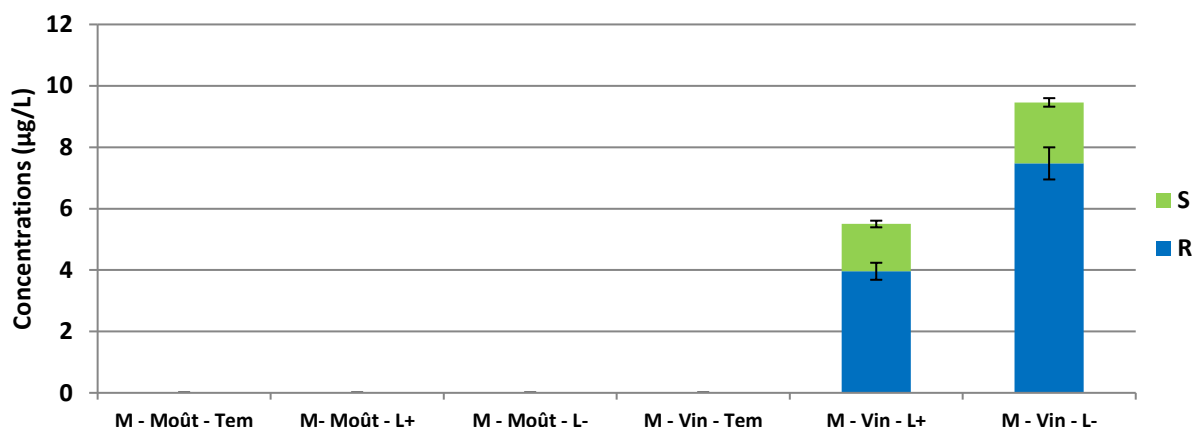


Figure 72 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Merlot sur la distribution énantiomérique de la δ -décalactone dans les moûts et les vins. n=2

Dans les moûts de Cabernet-Sauvignon (Figure 73), la forme *S* est majoritaire (>50%). Dans les vins, la formation de cette lactone est réalisée de façon stéréosélective. Les modalités témoin et L- présentent une configuration (*S*) de δ -décalactone énantiopure. En revanche, de façon surprenante dans la modalité L+, la configuration (*S*) est très largement majoritaire. La lumière pourrait, pour ce composé, avoir une incidence sur la formation des énantiomères au cours de la fermentation alcoolique.

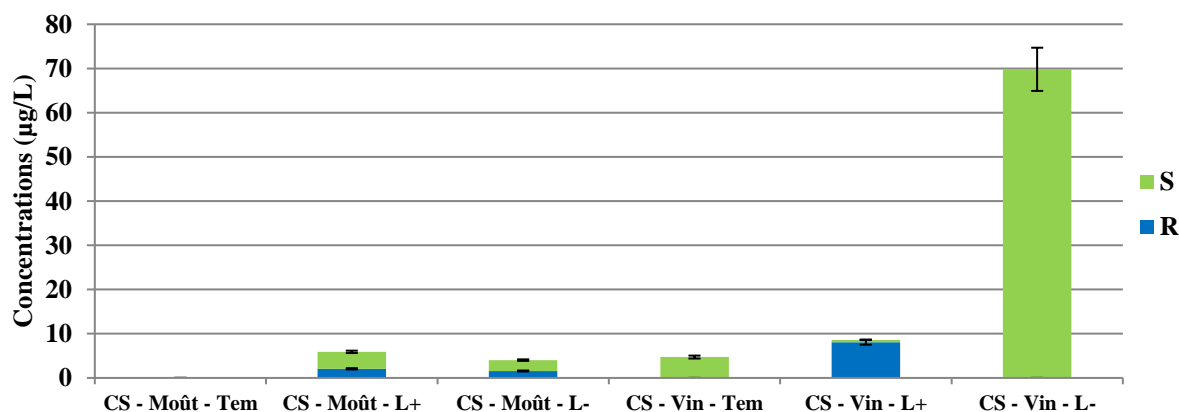


Figure 73 : Incidence des conditions de passerillage des raisins de Cabernet-Sauvignon sur la distribution énantiomérique de la δ -décalactone dans les moûts et les vins. n=2

c) Discussion

Les travaux de Tressl et Albrecht (1986) indiquent que la présence de deux formes énantiomériques dans les fruits laisse envisager plusieurs hypothèses sur leur mode de formation : l'intervention d'une enzyme peu énantiosélective, la compétition entre deux enzymes d'énantiosélectivité différente ou encore la coexistence de deux voies métaboliques distinctes. Le rapport *R/S* serait alors le reflet de la part respective de chacune des voies métaboliques.

Nous avons montré que le passerillage n'a pas d'impact sur la distribution énantiomérique des lactones. Dans ces essais, la lumière n'a pas d'impact sur la distribution énantiomérique des lactones dans les moûts et les vins de Merlot et Cabernet-Sauvignon sauf pour la δ -décylactone retrouvée sous la forme majoritaire *S* dans le vin de Cabernet-Sauvignon issus de raisins sur-muris sans lumière ; dans ce cas, la lumière favorise la formation de la forme *R*.

Les résultats concernant la γ -nonalactone sont en accord avec les travaux de Cooke *et al.* (2009). De plus, ils ont montré que les seuils de la forme *R* de la γ -nonalactone étaient supérieurs à ceux de la forme *S*. Les formes énantiomériques retrouvées alors dans nos échantillons de moûts et des vins seraient les formes les moins odorantes. Toutefois, les seuils de perception déterminés dans ces travaux sont largement supérieurs aux seuils de perception des deux formes réunies retrouvées dans la littérature. En effet, le seuil de perception connu de la γ -nonalactone dans le vin est de 25 $\mu\text{g/L}$ (en solution modèle vin) et de 60 $\mu\text{g/L}$ dans le vin (Pons, 2006) tandis que Cooke *et al.* (2009) reportent des seuils de 284 $\mu\text{g/L}$ dans le vin pour la forme *R* et de 91 $\mu\text{g/L}$ pour la forme *S*. Ainsi, les seuils de perception des énantiomères de la γ -nonalactone ont été déterminés dans la suite de ce travail.

3. Détermination des seuils de perception, individuels ou en mélanges, des énantiomères de la γ -nonalactone

Comme nous l'avons montré précédemment, la γ -nonalactone n'est pas retrouvée dans les raisins et les vins sous forme racémique. Aussi, la détermination de son impact sensoriel sur la base de la connaissance de son seuil de perception sous forme racémique peut être source de confusion.

Le rapport énantiomérique moyen retrouvé dans nos vins est : 70%*R*/30%*S*. La variation des seuils de perception de chacune des deux formes énantiomères nous a conduit à réaliser plusieurs seuils de perception en solution modèle.

Les seuils de perception de la γ -nonalactone et de ses énantiomères ont été réalisés à l'aide de tests sensoriels réalisés par un panel de 20 dégustateurs de l'Unité de recherche Œnologie à l'ISVV. Les résultats de l'analyse sensorielle sont présentés dans le Tableau 56.

Tableau 56 : Seuils de perception olfactive de la γ -nonalactone en solution hydroalcoolique (SH²)

Composé	Seuils de perception olfactive ($\mu\text{g/L}$)				
	100% <i>R</i>	70% <i>R</i> -30% <i>S</i>	50% <i>R</i> -50% <i>S</i>	30% <i>R</i> -70% <i>S</i>	100% <i>S</i>
γ -nonalactone	66	41	36	35	35

SH² : 12% vol. éthanol bidistillé, 5 g/L acide tartrique, ajustée pH 3,5 (NaOH 5M)

Tout d'abord, la valeur du seuil de perception de la forme racémique correspondant à la reconstitution du produit commercial racémique est proche de celles obtenues par Gemmert (2003) (25 $\mu\text{g/L}$), ou par Pons (2006) (27 $\mu\text{g/L}$). Ces tests sensoriels confirment que la forme énantiomérique *R* est presque deux fois moins odorante que la forme *S*, tout comme l'avait montré l'étude de Cooke *et al.* (2009). En solution hydro alcoolique, la forme *R* évoque une odeur de pêche cuite, de noix de coco intense tandis que la forme *S* évoque une odeur grasse, de noix de coco moins prononcée que la forme *R*. D'autre part, nous mettons en évidence qu'il suffit de 30% de la forme (*S*) dans le mélange énantiomérique pour que le seuil de perception soit diminué de façon notable. Le rapport énantiomérique (*R/S*) moyen retrouvé dans l'ensemble des vins analysés est de 70%*R*-30%*S* : il a un seuil de perception de 41 $\mu\text{g/L}$. Cette valeur modulant les seuils de perception reportés dans la littérature reflète la distribution naturelle de la γ -nonalactone dans les vins.

VII. Conclusion

Après avoir validé un protocole de passerillage des baies de raisin au laboratoire, nous avons étudié l'effet de la lumière au cours du passerillage. Nous montrons que le passerillage modifie profondément l'expression aromatique des moûts et des vins issus de leurs vinifications vers des nuances de fruits cuits. Toutefois, dans nos conditions expérimentales, le Merlot et le Cabernet-Sauvignon présentent des comportements différents. Dans les échantillons de moûts et de vins de Merlot, la lumière favorise l'expression des nuances de fruits cuits. A l'inverse, dans les moûts de Cabernet-Sauvignon, la lumière n'a pas d'incidence sur les nuances de fruits cuits retrouvées dans les moûts : dans les vins, c'est le passerillage en l'absence de lumière qui semble favoriser le développement de ces nuances.

Les analyses quantitatives des composés identifiés précédemment montrent que leurs teneurs retrouvées dans les moûts et les vins issus de raisins à maturité sont faibles. Le passerillage des raisins induit une augmentation significative moyenne des teneurs de chaque composé dans les moûts. Par la suite, la fermentation alcoolique va moduler ces effets selon la nature des composés. La formation des précurseurs des composés volatils est donc favorisée au cours du passerillage et une partie sera transformée par la dégradation oxydative dans les raisins puis l'autre partie convertie au cours du métabolisme levurien. Ainsi, les teneurs en furanéol, homofuranéol, γ -nonalactone, δ -décalactone, massoia lactone, ainsi que celle du composé C-ZO19, vont augmenter à la faveur du métabolisme levurien. En revanche, les teneurs en MND sont systématiquement plus faibles dans les vins ; en dessous de son seuil de perception (16ng/L).

Nous montrons que le passerillage en présence de lumière aboutit à la formation de plus grandes quantités de MND dans les moûts, de furanéol et de composé C-ZO19 dans les moûts et les vins et de γ -nonalactone dans les vins. La (Z)-1,5-octadien-3-one, dosée pour la première fois dans les moûts, est également retrouvée en quantités très importantes dans les modalités passerillées : 250 ng/L, dépassant très largement son seuil de perception dans le moût (9ng/L) ; cependant, la lumière n'a pas d'incidence sur sa formation. Aussi, l'absence de lumière au cours du passerillage favorise la formation de massoia lactone dans les moûts et les vins. Au final, l'étude de la contribution aromatique de ces composés en lien avec le passerillage en présence ou non de lumière nécessite de distinguer le cas du Merlot et du Cabernet-Sauvignon.

Concernant le Merlot, dans ces conditions expérimentales il apparaît que, la MND, le furanéol et l'homofuranéol ainsi que la massoia lactone et la (Z)-1,5-octadien-3-one participent à l'arôme des moûts issus de raisins passerillés. Seuls le furanéol, la massoia lactone et la γ -nonalactone participent directement à l'arôme des vins jeunes issus de raisins passerillés. Le rapport des aires du composé C-ZO19 est très largement supérieur dans les modalités issues de raisins sur-muris à la lumière. Cependant à ce jour, nous ne pouvons conclure quant à son impact sur l'arôme des moûts et des vins. Dans les moûts et les vins de Cabernet-Sauvignon, les teneurs en composés volatils suivent les même tendances ; cependant, les concentrations retrouvées restent inférieures aux seuils de perception à l'exception des teneurs en homofuranéol et en (Z)-1,5-octadien-3-one dans les moûts.

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle à la spectrométrie de masse, à partir d'une colonne chirale précédé d'une colonne polaire (BP20) nous a permis de déterminer la distribution des énantiomères de la γ -nonalactone et de la δ -décalactone dans les moûts et les vins. Pour la δ -déca nous avons observé trois type de distributions : un excès de la forme (S) dans les moûts, une forme énantiopure (R) et une forme énantiopure (S) dans les vins selon les modalités. Dans ce dernier cas, il semble que le passerillage en présence de lumière ait une incidence sur la distribution de ses énantiomères. Nous montrons également que la (R)- γ -nonalactone est majoritaire dans les moûts et les vins et que la lumière n'a pas d'incidence sur sa distribution. Le ratio R/S retrouvé est généralement de 70/30.

Après avoir obtenu chaque énantiomère optiquement pur par séparation en CLHP sur colonne chirale semi-préparative (Chiral Technologie), nous avons pu déterminer les seuils de perception des deux énantiomères de la γ -nonalactone en solution synthétique de composition proche du vin.

Les seuils de perception sont différents alors que les nuances aromatiques sont proches. Les valeurs respectives des seuils de perception sont de 35 et 66 $\mu\text{g/L}$ pour les formes S et R de la γ -nonalactone. Ainsi, selon la proportion de chaque énantiomère dans les vins, l'impact aromatique de cette lactone sera plus ou moins important. Le seuil de perception du ratio des énantiomères retrouvés dans nos échantillons de vin (70%R-30%S) est de 41 $\mu\text{g/L}$. Il confirme la contribution de la γ -nonalactone à l'arôme des vins issus de raisins passerillés en présence de lumière. De plus, aux concentrations rencontrées dans ces vins, seule la forme S de la γ -nonalactone est susceptible de participer à l'odeur du vin.

L'interprétation moléculaire des nuances perçues dans les moûts et les vins sur la base de marqueurs moléculaires pertinents nous a permis de montrer qu'elle était complexe. En effet nous avons montré que plusieurs familles chimiques ayant des mécanismes de formation très différents étaient associées à ces nuances dans les moûts et les vins.

Nous proposons à présents d'appliquer ces résultats à l'étude de l'incidence de la date de récolte sur ces composés volatils et sur l'analyse sensorielle des moûts et des vins.

CHAPITRE 9

INCIDENCE DE LA DATE DE RECOLTE DES RAISINS DE MERLOT ET DE CABERNET-SAUVIGNON SUR L'AROME DES MOULTS ET DES VINS - EXPERIENCES EN CHAMP

La formation de teneurs importantes en composés volatils odorants dont l'odeur rappelle les fruits cuits au cours de la sur-maturation des raisins, nous a permis de faire le lien entre la composition fine d'un moût, d'un vin et d'un état physiologique particulier de la baie de raisin. Ce résultat nous a suggéré que les teneurs en lactones, furanones et aldéhydes précédemment identifiés puissent être modulées selon la date de récolte des raisins. Dans une première partie, nous présentons les résultats des essais réalisés au cours du millésime 2012 d'une parcelle de Cabernet-Sauvignon du Château Latour, récoltée à trois dates de récoltes espacées les unes des autres de 4 jours. Dans la seconde partie, nous avons réalisé des essais sur deux parcelles de Cabernet-Sauvignon et de Merlot du Château Latour récoltées chacune à 4 dates de récoltes espacées de 2 à 8 jours. Ces travaux ont pour objectif d'étudier par une approche croisée de chimie analytique et d'analyse sensorielle, l'évolution des composés volatils et des nuances de fruits cuits des moûts et des vins élaborés avec des raisins récoltés à différentes dates.

I. Incidence de la date de récolte : cas des raisins de Cabernet-Sauvignon – millésime 2012

1. Le climat du millésime 2012 à Bordeaux

Les données climatiques des parcelles de Château Latour sont présentées dans le Tableau 57 et sont fournies par leur station météo privée. On y retrouve des températures fraîches mais supérieures aux moyennes en début d'année, avec un mois de Février particulièrement sec (4 mm de précipitations moyennes) ; puis un début de printemps très pluvieux avec des précipitations moyennes de 174,5 mm et des températures moyennes supérieures aux moyennes mensuelles de la période 1995-2011. Enfin, le mois d'Août fut chaud et très sec (8 mm) et les conditions climatiques favorables aux conditions de maturation en Septembre. En revanche l'automne fut pluvieux, imposant des vendanges rapides pour le Cabernet-Sauvignon (Gény et Dubourdieu, 2012).

Tableau 57 : Températures et précipitations mensuelles de l'année 2012 au Château Latour, comparées aux moyennes des températures des 16 dernières années et aux

moyennes des précipitations des 36 dernières années du château (données Château Latour)

	T°C mensuelles moyennes 2012	T°C mensuelles moyennes 1995-2011	Précipitations mensuelles 2012 (mm)	Précipitations moyennes 1975-2011 (mm)
Janvier	8,24	6,77	76,5	86,25
Février	10,05	8,02	4	66,71
Mars	12,74	10,76	21,5	64,89
Avril	11,96	13,52	174,5	67,60
Mai	19,08	17,56	39,5	63,82
Juin	21,10	20,70	69	54,17
Juillet	21,71	21,68	37	49,62
Août	23,31	22,34	8	53,25
Septembre	19,82	19,47	60,5	69,40

2. Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des moûts et des vins

Afin d'évaluer l'impact de la date de récolte sur la composition, l'expression aromatique des moûts et des vins, des vinifications en grandeur quasi réelle sont réalisées (cuve 12 hl). Chaque date de récolte est vinifiée séparément. La date D correspond à la date de récolte préconisée par le directeur technique. Les résultats obtenus par le laboratoire de référence de la propriété (méthodologie FOSS) sont reportés dans les Tableaux 58 et 59 pour les moûts et les vins respectivement.

Ces dosages montrent que la date de récolte a un effet sur la composition des moûts : la teneur en sucres réducteurs reste stable, le pH augmente tandis que les acides diminuent (Tableau 58).

Tableau 58 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des moûts de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012

Dates de récolte	Date	Sucres réducteurs (g/L)	pH	Acidité totale (g/L H₂SO₄)	Acide malique (g/L)	Azote assimilable (mg/L)
D-4jours	08-10	211	3,52	3,10	2,95	105
D	12-10	213	3,53	3,0	2,91	165
D+4jours	16-10	221	3,64	2,74	2,75	121

Aussi, les dosages dans les vins (Tableau 59) montrent que la date de récolte n'a pas d'incidence sur le TAV ; sa diminution entre D-4jours et D est très probablement une erreur de mesure. Enfin, la date de récolte n'a pas d'effet sur le pH et l'acidité totale dans les vins.

Tableau 59 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des vins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012 (après fermentation alcoolique)

Dates de récolte	Date	TAV (%vol.)	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide malique (g/L)	Acidité volatile (g/L)
D-4jours	08-10	12,74	3,73	4,4	2,6	0,06
D	12-10	12,54	3,71	4,1	2,1	0,12
D+4jours	16-10	12,55	3,74	4,3	2,8	0,08

3. Incidence de la date de récolte des raisins sur l'expression aromatique des moûts et des vins

Tout d'abord, les moûts, prélevés dans la cuve de vinification juste après le remontage d'homogénéisation à l'abri de l'air, ont été soumis à l'analyse sensorielle par un panel de 4 juges (professionnels et chercheurs). Il a été noté que le moût issu de raisins récoltés 4 jours avant la date optimale (D-4) exprimait plutôt des nuances végétales et herbacées. Le moût issu de raisins récoltés à la date optimale évoquait plutôt des nuances de florales et herbacées. Enfin, le moût issu de raisins récoltés 4 jours après la date de récolte optimale rappelait des nuances florales mais aussi de fruits cuits.

Pour les vins, prélevés après la FML, les analyses sensorielles ont été réalisées sous forme de profil sensoriel par 21 dégustateurs de l'unité de Recherche Œnologie, ISVV. Il était demandé au panel de noter l'intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits de chaque vin sur une échelle de notation structurée de 0 (=moins intense) à 10 (=plus intense). Les résultats de l'analyse sensorielle ont ensuite été traités avec le test statistique ANOVA. Ils sont représentés dans la Figure 74.

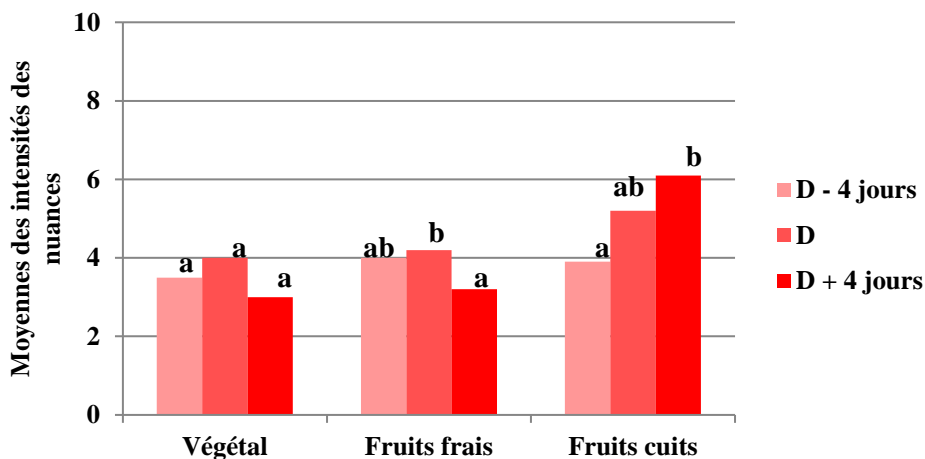


Figure 74 : Incidence de la date de récolte des raisins sur les moyennes des intensités des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits retrouvées dans les vins. Les lettres « a » et « b » correspondent aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$).

Les résultats de l'analyse sensorielle des vins montrent que la date de récolte n'a pas d'incidence sur les nuances végétales retrouvées dans les vins ; en effet, un délai de 8 jours entre D-4 et D+4, ne modifie pas l'arôme végétal des vins. Aussi, nous montrons qu'un délai de 4 jours, entre D et D+4, suffit à diminuer significativement l'arôme de fruits frais des vins. Enfin, un délai de 8 jours, entre D-4 et D+4, suffit à augmenter significativement les odeurs de fruits cuits de ces vins.

4. Incidence de la date de récolte des raisins sur les teneurs en composés volatils des moûts et des vins

Les dosages des composés volatils ont été réalisés. Les résultats reportés dans la Figure 75 sont ceux des composés dont la date de récolte modifie les teneurs dans les moûts et/ou les vins issus de raisins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2012. Les composés quantifiés sont le furanéol, l'homofuranéol, la γ -nonalactone, la massoia lactone et la MND. En revanche, suite à des contraintes techniques, nous ne pouvons présenter les dosages la (Z)-1,5-octadien-3-one dans ces expérimentations.

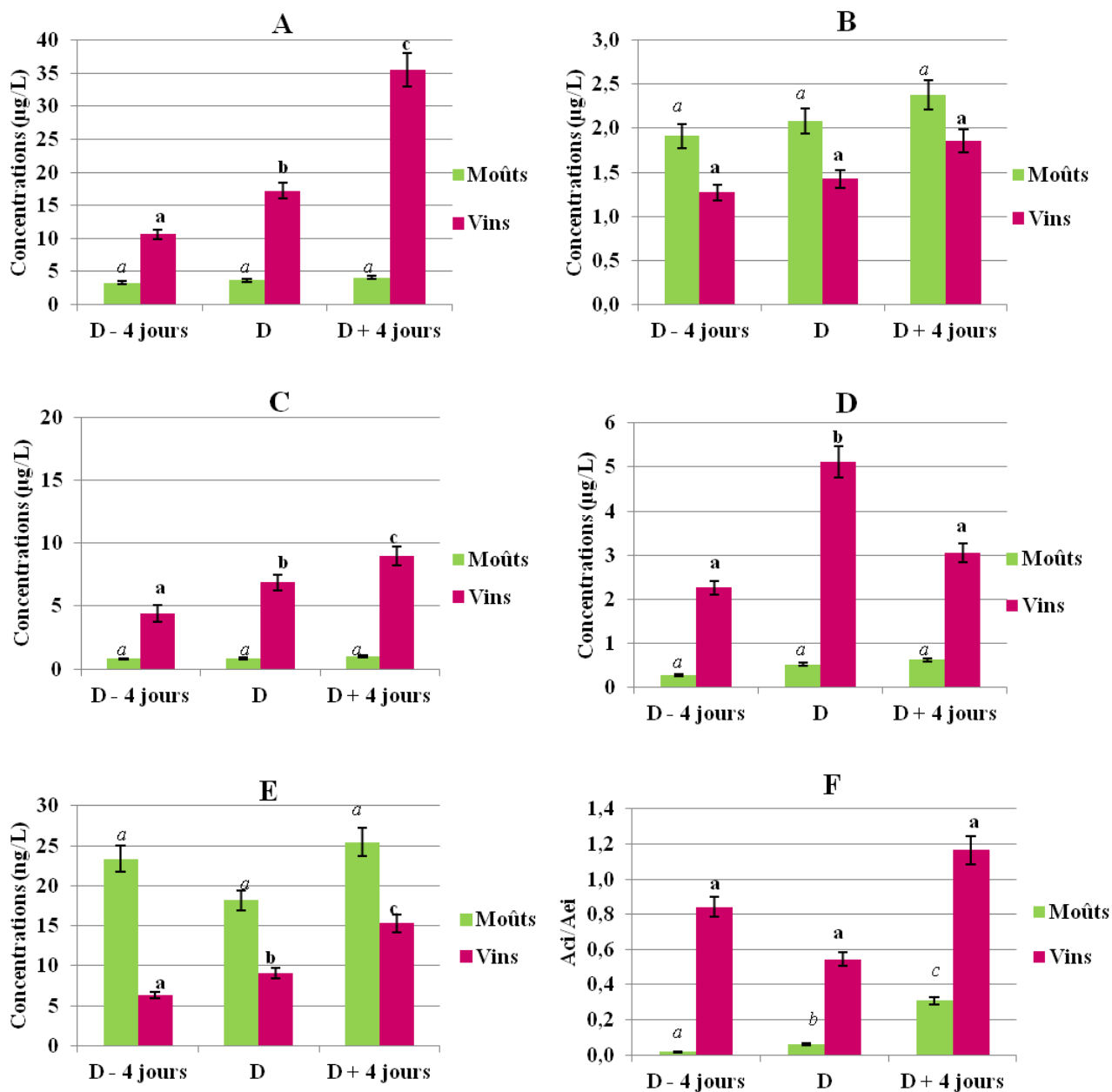


Figure 75 : Incidence de la date de récolte des raisins sur les teneurs en furanéol (A), homofuranéol (B), γ -nonalactone (C), massoia lactone (D), MND (E) et composé C-ZO19 (F) des moûts et des vins. Les lettres « a » et « b » correspondent aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=2

Ces résultats montrent tout d'abord que, dans nos conditions expérimentales, la date de récolte n'a pas d'incidence sur les teneurs en furanéol, homofuranéol, γ -nonalactone, massoia lactone et MND des moûts ; les teneurs sont, par ailleurs, très faibles. Nous avons montré précédemment que le furanéol se combinait au SO₂ ; l'absence de variations du furanéol dans

les moûts peut être expliquée par le phénomène de combinaison au SO₂ dans la mesure où les moûts ont été prélevés dans les cuves de vinification après sulfitage. En revanche, les valeurs des rapports d'aire Aci/Aei du composé C-ZO19, indiquent que la date de récolte a un effet significatif sur les concentrations retrouvées dans les moûts. Pour cette expérimentation, il est possible de discriminer les dates de récolte dans les moûts en fonction de la concentration du composé C-ZO19.

Dans les vins, les analyses quantitatives mettent en évidence un effet date de récolte. Pour le furanéol, l'augmentation des teneurs dans les vins varie avec l'état de maturité des baies. Les teneurs sont triplées entre « D - 4 jours » et « D + 4 jours ». La concentration maximale, à la date « D + 4 jours », est proche du seuil de perception (49 µg/L en solution modèle de vin). Les analyses de la γ -nonalactone (coefficient 2 entre D-4jours et D+4jours) et de la MND (coefficient 3 entre D-4jours et D+4jours) montrent que, bien que les teneurs retrouvées soient inférieures à leur seuil de perception respectif, elles varient de façon croissante avec l'état de maturité des raisins. Les teneurs dans les vins de la massoia lactone sont maximales à la date D. Cependant, elles restent inférieures au seuil de perception dans le vin (56 µg/L). Pour le composé C-ZO19, bien qu'il n'existe pas de différences significatives, les teneurs retrouvées dans la D+4 sont les plus élevées.

5. Analyses en composantes principales

Afin d'établir une synthèse de l'ensemble des observations obtenues concernant les données de dégustation des vins ainsi que des résultats des dosages en composés volatils, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée (Figure 76). L'ACP est bien représentée : 82,1% de la variance totale est expliquée. On observe que les nuances de fruits cuits dans les vins sont anti-corrélées avec les nuances de fruits frais. D'autre part, cette analyse statistique permet de mettre en évidence que le furanéol, la massoia lactone, la γ -nonalactone, le composé C-ZO19 ainsi que la MND sont bien corrélés avec l'intensité des nuances de fruits cuits. L'homofuranéol est mal représenté sur les deux axes ; cela est probablement dû aux faibles variations des teneurs entre les 3 modalités.

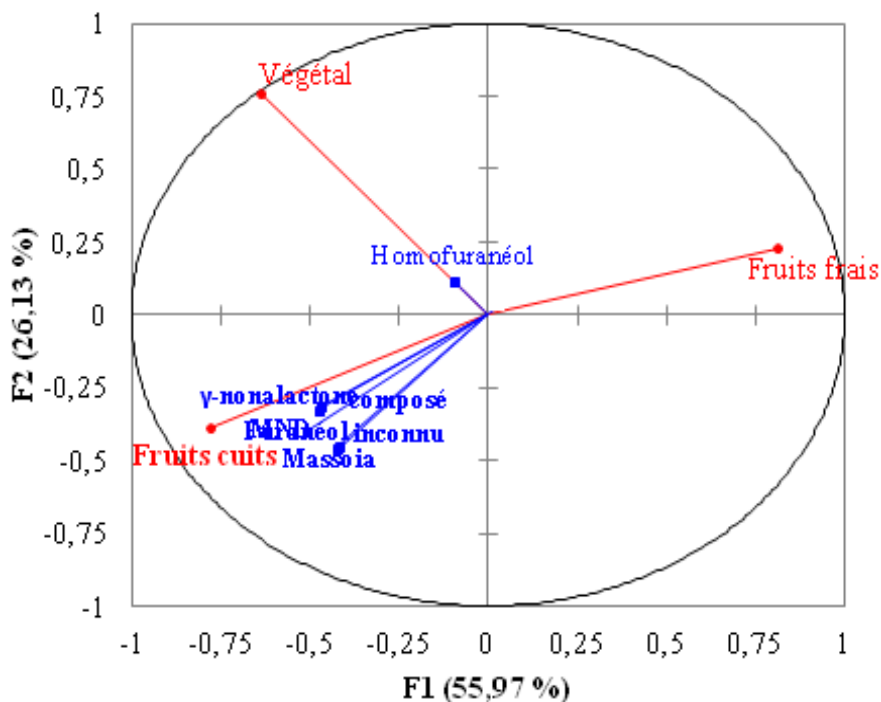


Figure 76 : Analyse en composantes principales (ACP) - Variables actives : Intensités des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits. Variables supplémentaires : composés volatils.

II. Incidence de la date de récolte : cas des raisins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon – millésime 2014

1. Le climat du millésime 2014 à Bordeaux

Les données climatiques retrouvées au château Latour au cours de l'année 2014 sont répertoriées dans le Tableau 60. On observe un début d'année doux (températures supérieures aux moyennes mensuelles) mais très pluvieux. Le printemps fut doux et le début d'été chaud et plutôt sec. En Septembre, l'ensoleillement fut supérieur à la moyenne des mois d'étés (Gény et Dubourdieu, 2014) et les températures dignes d'un mois de Juillet ainsi qu'une pluviométrie quasiment inexistante permettant de laisser murir les raisins.

Tableau 60 : Températures et précipitations mensuelles de l'année 2014 au château Latour, comparés aux moyennes des températures des 16 dernières années et aux moyennes des précipitations des 36 dernières années du château (données Château Latour)

	T°C mensuelles moyennes 2014	T°C mensuelles moyennes 1995-2011 (mm)	Précipitations mensuelles 2014	Précipitations moyennes 1975-2011 (mm)
Janvier	9,75	6,77	160,5	86,25
Février	10,14	8,02	141,5	66,71
Mars	11,39	10,76	75	64,89
Avril	14,48	13,52	47,5	67,60
Mai	15,97	17,56	102,5	63,82
Juin	22,07	20,70	65	54,17
Juillet	22,65	21,68	51,5	49,62
Août	18,08	22,34	51	53,25
Septembre	21,23	19,47	18	63,91

2. Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des moûts et des vins

Concernant la parcelle de Merlot, les intervalles entre les dates de récolte sont de 6, 4 et 8 jours soit 18 jours entre la première D1 et la dernière date de récolte D4. Les résultats des paramètres œnologiques de moûts de Merlot sont présentés dans le Tableau 61. La date de récolte a un effet sur les concentrations en sucres réducteurs ; on observe une augmentation importante entre D3 et D4. D'autre part, l'acidité totale des moûts passe de 3,81 à 4,4 g/L entre D3 et D4. Pour le Merlot, la date de récolte n'a pas d'incidence sur le pH et les teneurs en acide malique.

Tableau 61 : Incidence de la date de récolte sur la composition des moûts de Merlot du millésime 2014

Noms	Dates de récoltes	Sucres réducteurs (g/L)	pH	Acidité totale (g/L H₂SO₄)	Acide malique (g/L)	Azote assimilable (mg/L)
D1	18-09	221	3,36	4,1	2,4	143
D2	24-09	226	3,43	3,93	2,4	168
D3	28-09	225	3,38	3,81	2,2	131
D4	06-10	237	3,39	4,4	2,3	155

Sur la parcelle de Cabernet-Sauvignon, les intervalles entre les dates de récolte sont de 3, 2 et 5 jours soit 10 jours entre D1, la première date de récolte et D4, la dernière. Dans les moûts de Cabernet-Sauvignon (Tableau 62), on n'observe pas de variations des teneurs en sucres de D1 à D3 ; en revanche, entre D3 et D4 les teneurs sont fortement augmentées, comme il a été vu précédemment dans le Merlot. L'acidité totale varie en fonction des dates de récolte mais les teneurs les plus basses sont retrouvées dans la D4. De façon générale, les conditions climatiques font que le pH et l'acide malique varient peu entre les dates D1 et D4.

Tableau 62 : Incidence de la date de récolte des raisins sur les paramètres œnologiques courant des moûts de Cabernet-Sauvignon du millésime 2014

Noms	Dates de récoltes	Sucres réducteurs (g/L)	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide malique (g/L)	Azote assimilable (mg/L)
D1	07-10	218	3,45	3,70	3,14	70
D2	10-10	218	3,5	3,45	3,69	57
D3	12-10	217	3,49	3,77	4,07	61
D4	17-10	236	3,51	3,20	3,55	67

Dans les vins, on observe que la date de récolte a une incidence sur le TAV ainsi que sur le pH. Dans le Merlot (Tableau 63), le TAV et le pH sont augmentés et corrélés avec les dates de récolte au cours du temps. Dans les vins de Cabernet-Sauvignon (Tableau 64), le TAV est augmenté et corrélé avec les dates de récolte ; le pH diminue au cours du temps de maturation des raisins.

Tableau 63 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des vins de Merlot du millésime 2014

Noms	Dates de récoltes	TAV (%vol.)	pH	Acidité volatile (g/L)
D1	18-09	13,31	3,46	0,23
D2	24-09	13,33	3,55	0,29
D3	28-09	13,7	3,6	0,19
D4	06-10	14,2	3,62	0,23

Tableau 64 : Incidence de la date de récolte des raisins sur la composition des vins de Cabernet-Sauvignon du millésime 2014

Noms	Dates de récoltes	TAV (%vol.)	pH	Acidité volatile (g/L)
D1	07-10	13,29	3,76	0,27
D2	10-10	13,22	3,5	0,19
D3	12-10	13,27	3,46	0,2
D4	17-10	14,06	3,5	0,18

3. Incidence de la date de récolte des raisins sur l'expression aromatique des moûts et des vins

Les analyses sensorielles ont été réalisées sous forme de profil sensoriel par 22 dégustateurs de l'unité de Recherche Œnologie, ISVV. Il était demandé au panel de juger l'intensité des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits de chaque vin sur une échelle de notation structurée de 0 (=moins intense) à 10 (=plus intense). Les résultats de l'analyse sensorielle ont ensuite été traités avec le test statistique ANOVA (logiciel R).

a) *Les moûts et les vins de Cabernet-Sauvignon*

Les résultats des moûts et des vins de Cabernet-Sauvignon sont présentés dans la Figure 77. Dans les moûts, il n'existe pas de différences significatives entre les modalités pour les nuances végétales et fruits cuits. En revanche, pour les nuances de fruits frais, il existe des différences significatives entre D1 et D2, la D1 étant la plus intense pour ces nuances.

Dans les vins, on constate que le vin issu de la D1 est significativement plus végétal que les trois autres vins. Il existe des différences significatives pour les nuances de fruits frais perçues à la dégustation ; le vin de la D3 étant perçu comme significativement plus intense que les vins de D1 et D4. Pour les nuances de fruits cuits, la date de récolte a une incidence significative sur ces odeurs entre le vin D2 et le vin D4 ; le vin D4 étant significativement perçu comme ayant les nuances fruits cuits les plus intenses.

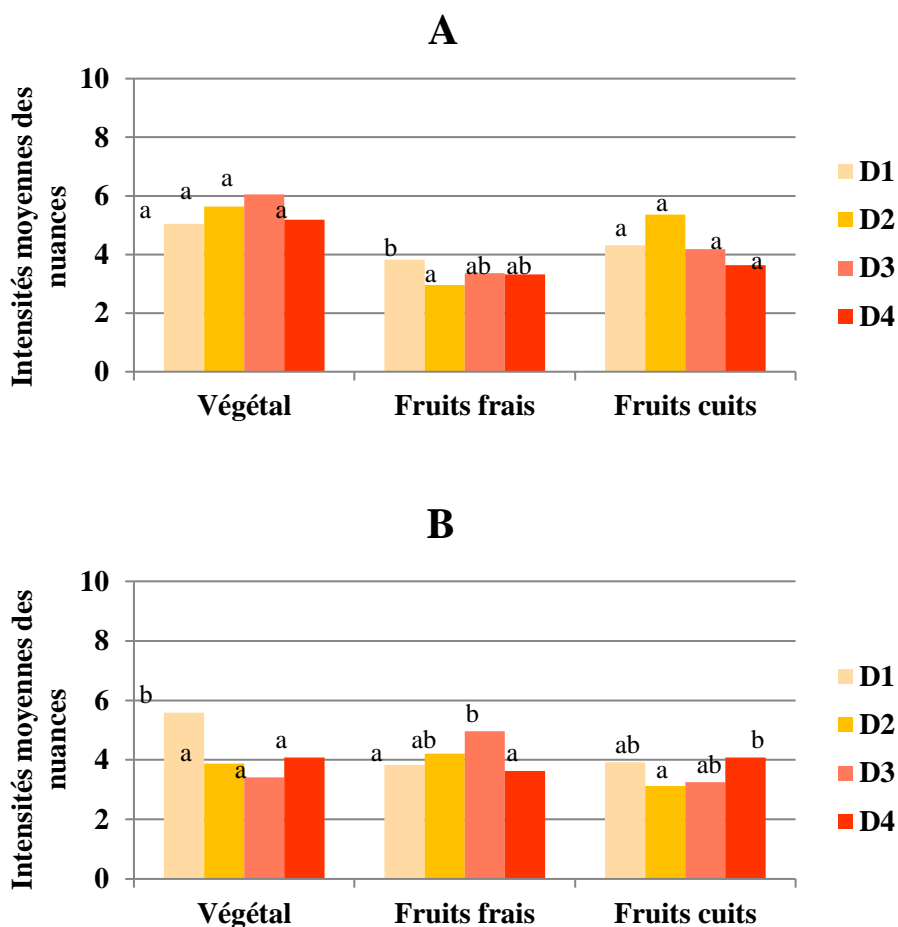


Figure 77 : Intensités moyennes des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts (A) et des vins (B) de Cabernet-Sauvignon issus des dates de récolte D1, D2, D3 et D4. Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$).

b) Les moûts et les vins de Merlot

Les résultats des profils sensoriels des moûts et des vins de Merlot sont présentés dans la Figure 78. On montre dans les moûts (A) que la date de récolte ne modifie pas les nuances végétales et fruits cuits perçues à la dégustation. En effet, le moût D2 est significativement différent des trois autres selon le critère « nuances végétales » ; d'autre part, il n'y a aucune différence significative entre les 4 moûts selon l'intensité du descripteur « fruits cuits ». Enfin, la date de récolte a un effet sur l'intensité des nuances fruits frais des moûts puisque le moût D1 est significativement différent du moût D2 ; on observe la même tendance que dans le Cabernet-Sauvignon.

Dans les vins (B), la date de récolte est bien corrélée avec l'intensité des nuances végétales et fruits cuits. Plus la date de récolte est tardive, plus les nuances végétales diminuent dans les vins alors que les nuances de fruits cuits sont plus marquées. Le vin D4 est significativement différent des vins D1 et D2 pour les nuances végétales et fruits cuits. On n'observe pas de différences significatives dans les vins concernant les nuances de fruits frais.

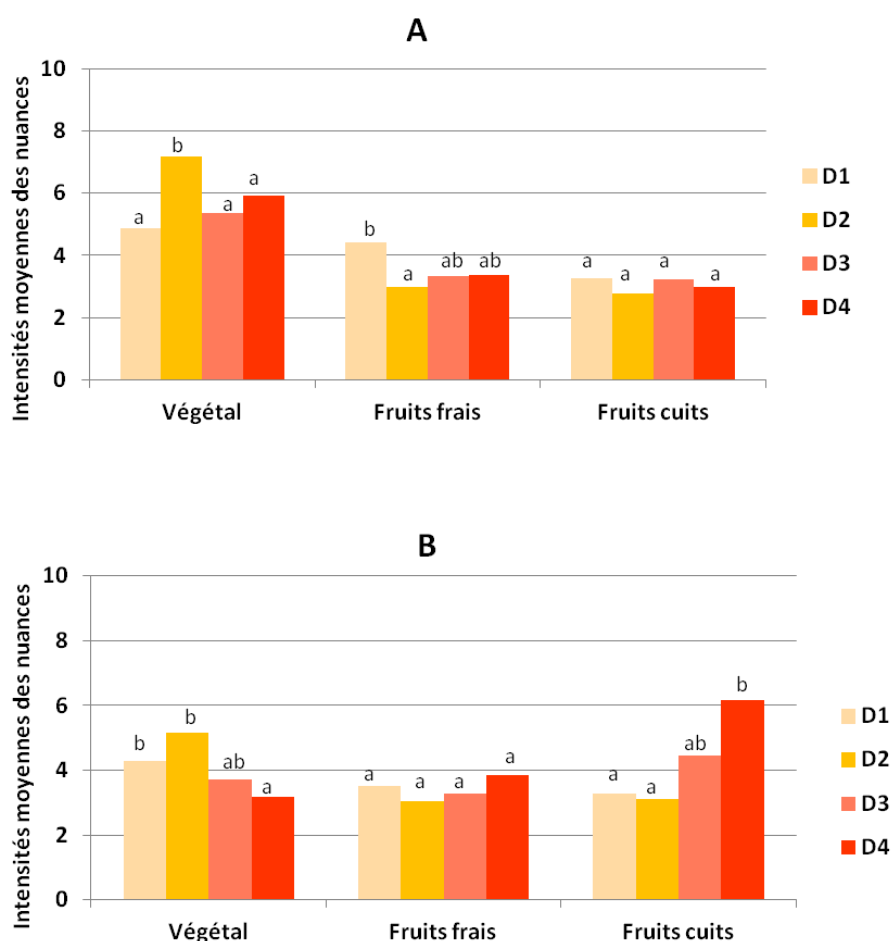


Figure 78 : Intensités moyennes des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des moûts (A) et des vins (B) de Merlot issus des dates de récolte D1, D2, D3 et D4. Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$).

4. Incidence de la date de récolte sur les teneurs en composés volatils dans les moûts et les vins

Le dosage des composés volatils a été réalisé à l'aide de la CPG-SM. Les résultats des dosages de la γ -nonalactone, du C-ZO19, du furanéol, de l'homofuranéol, de la MND ainsi que de la massoia lactone sont détaillés ci-dessous. Ils ont été réalisés sur moût, sur vin après

fermentation alcoolique et sur vin après 6 mois de conservation. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le test ANOVA.

a) Dosages des lactones

i. La γ -nonalactone

Dans un premier temps, ces essais mettent en évidence que le choix de la date de récolte modifie la teneur en γ -nonalactone (Figure 79) des moûts de Cabernet-Sauvignon. Bien que les teneurs soient faibles, plus la cueillette est tardive, plus les teneurs rencontrées sont importantes, plus particulièrement pour les dates D3 et D4. Détectée précocement dans les moûts de Merlot, sa concentration reste faible et n'évolue guère dans les autres modalités.

Dans les vins de Cabernet-Sauvignon, les teneurs varient peu entre D1 et D3 alors que la modalité D4 se distingue significativement allant jusqu'à 20,8 $\mu\text{g/L}$. Après 6 mois de conservation en bouteille, les teneurs sont légèrement augmentées dans les vins D1, D2 et D3, et fortement augmentées dans le vin D4 (+ 222% entre D1 et D4). L'effet date de récolte est conservé après 6 mois de vieillissement en bouteille. Dans les vins de Merlot, le choix de la date de récolte modifie les teneurs en γ -nonalactone après FA et après 6 mois passés en bouteille.

Au final, ces résultats suggèrent que pour les raisins de Merlot et de Cabernet-Sauvignon, une récolte tardive des raisins doit probablement modifier les teneurs en précurseurs de ce composé.

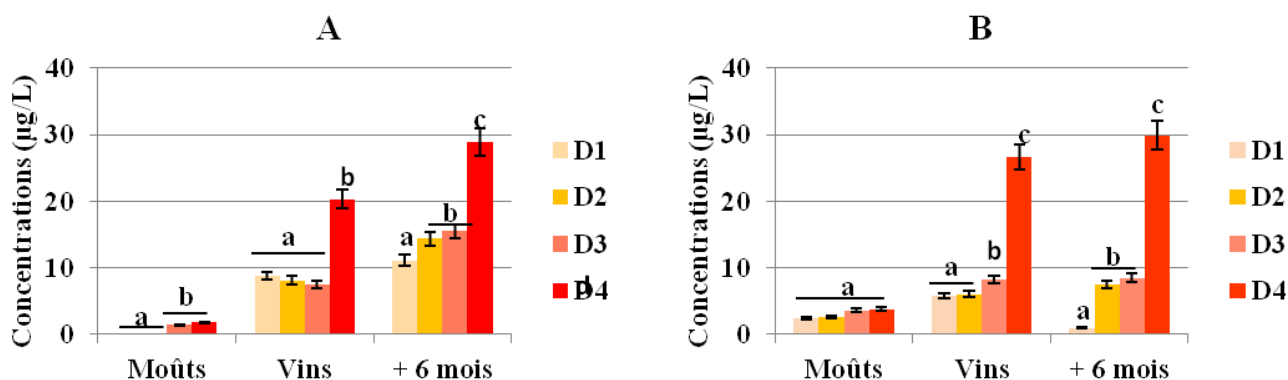


Figure 79 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en γ -nonalactone dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

ii. *La massoia lactone*

Les résultats des analyses quantitatives en massoia lactone dans les moûts (Figure 80) montrent que ce composé ne permet pas de discriminer les dates de récolte pour le Cabernet-Sauvignon et le Merlot. Dans les vins de Cabernet-Sauvignon, on observe que les proportions sont identiques et maximale pour D3 et D4 dans les vins après FA ; après 6 mois, seule la D4 est significativement différentes dans 3 autres.

Dans les vins de Merlot en revanche, on montre un effet date de récolte corrélé avec les concentrations en massoia. Les teneurs maximales retrouvées restent largement inférieures au seuil de perception dans les vins (56 µg/L) mais demeurent supérieures à celui évalué en milieu modèle (11 µg/L). Par conséquent, ce composé dont l'odeur évoque la figue, contribue à l'arôme de ces vins.

Après 6 mois de conservation, les teneurs en massoia lactone restent stables dans les vins.

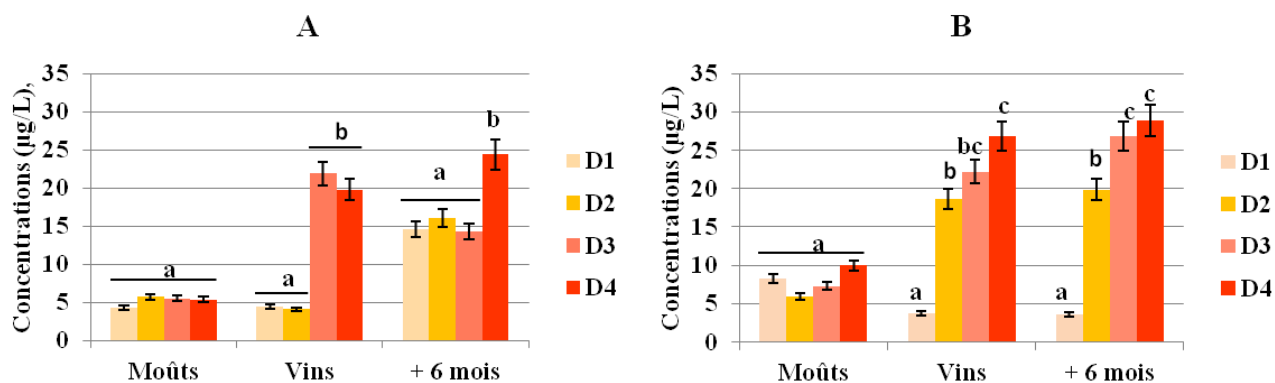


Figure 80 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en massoia lactone dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

b) Dosages du composé C-ZO19

Les résultats des analyses semi-quantitatives du composé C-ZO19 sont détaillés dans la Figure 81. Nous mettons en évidence que la teneur du composé C-ZO19 varie avec la date de récolte dans les moûts mais aussi dans les vins. Les rapports varient peu ou pas du tout au cours des 6 mois de conservation en bouteille. Ce composé est détecté dans les moûts et rencontré de façon plus marqué dans les raisins récoltés tardivement (Teneurs x4 entre D1 et D4 dans les vins de Merlot). Ces résultats semblent plus contrastés dans les moûts et les vins de Cabernet-Sauvignon. Ces concentrations semblent stables au cours des 6 mois de conservation en bouteille.

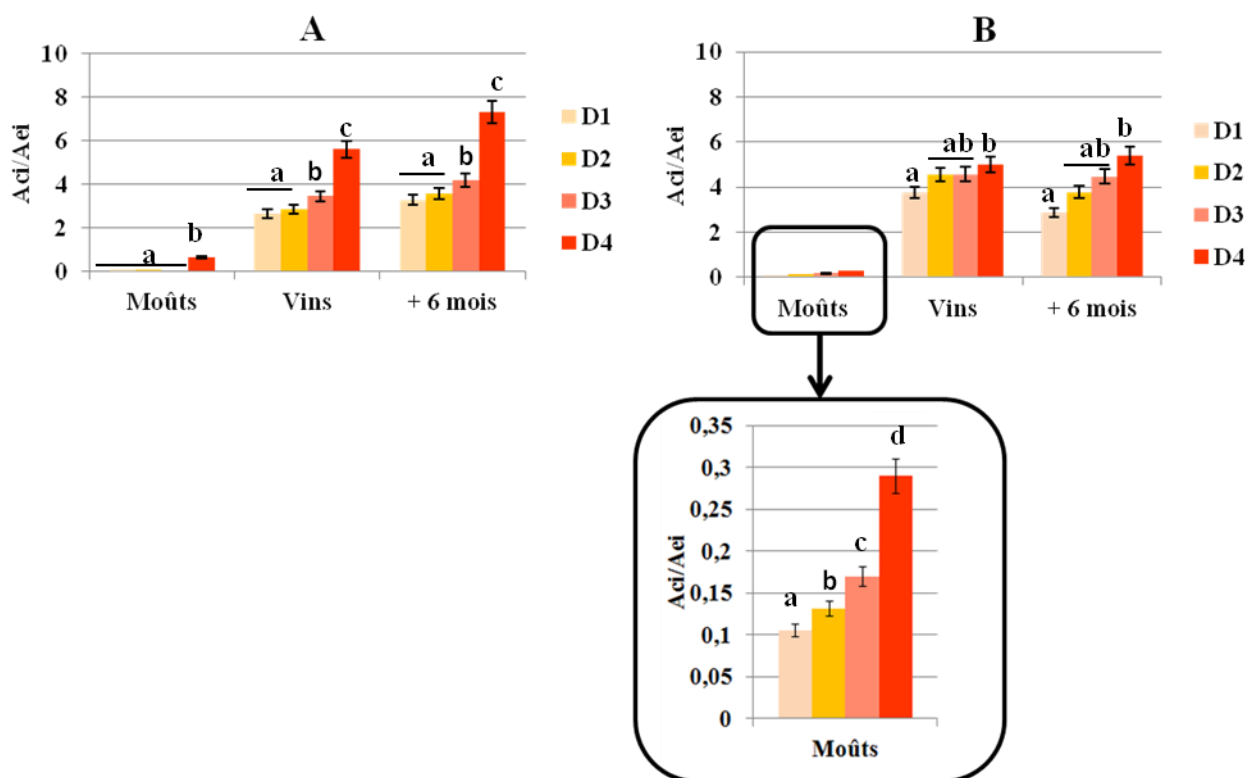


Figure 81 : Incidence de la date de récolte sur le rapport de l'aire du composé C-ZO19 sur l'étalon interne dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

c) Dosages des furanones

i. Le furanéol

La récolte des raisins à des dates de récolte différentes et donc, des degrés de maturation différents, n'a aucune incidence sur les teneurs en furanéol des moûts de Cabernet-Sauvignon et de Merlot (Figure 82). Les teneurs sont faibles ($\sim 10 \mu\text{g/L}$). Dans les vins de Cabernet-Sauvignon, il n'est pas possible de discriminer D1, D2, D3 ; en revanche, les teneurs retrouvées dans la D4 sont significativement supérieures aux autres modalités ($71 \mu\text{g/L}$) et supérieures au seuil de perception dans les vins. Dans les vins de Merlot, la date de récolte modifie de façon progressive les teneurs en furanéol ; les teneurs retrouvées dans D3 et D4 sont supérieures au

seuil de perception. Enfin, après 6 mois de conservation en bouteilles, les teneurs dans les vins de Cabernet-Sauvignon et de Merlot suivent les mêmes tendances que dans les vins après FA mais elles sont considérablement diminuées (divisées par 2 environ).

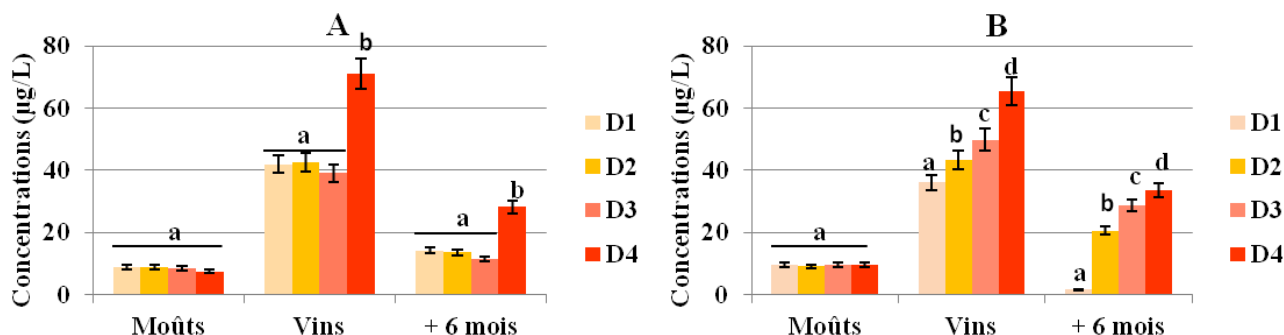


Figure 82 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en furanéol dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

ii. *L'homofuranéol*

Les résultats des analyses quantitatives de l'homofuranéol sont présentés dans la Figure 83. Pour le Cabernet-Sauvignon, il n'y a pas d'incidence de la date de récolte sur le contenu en homofuranéol dans les moûts et les vins. Après 6 mois, les teneurs sont plus faibles mais restent corrélées avec la date de récolte.

Pour le Merlot, la date de récolte est corrélée aux concentrations retrouvées dans les moûts. La D4 contient environ 8 µg/L d'homofuranéol. A ces teneurs, dépassant son seuil de perception ($Sp_{moût}$ 5,5 µg/L), cette furanone doit probablement contribuer à l'arôme du moût. Dans les vins, les teneurs sont plus faibles et largement inférieures à son seuil de perception (Sp_{vin} 26,5 µg/L).

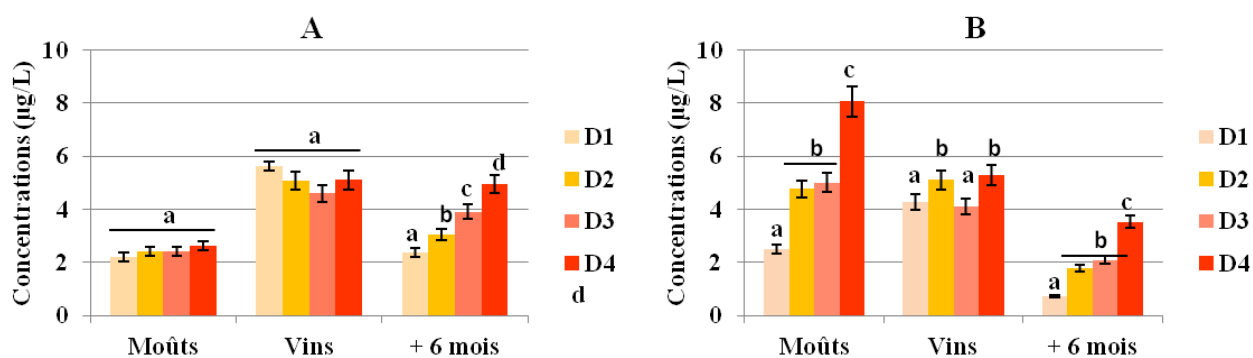


Figure 83 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en homofuranéol dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

d) Dosages de la MND

Les analyses quantitatives de la MND (Figure 84) ne permettent pas de discriminer les dates de récolte dans les moûts. Ces résultats peuvent être en contradiction avec d'autres observations préliminaires réalisées sur des millésimes antérieurs (Pons, 2013). Toutefois, nos résultats suggèrent l'importance des conditions climatiques propres à chaque millésime modulant ainsi les teneurs en MND des moûts. Cependant dans les vins, on observe des teneurs qui sont en lien avec le degré de maturité des raisins. Ce phénomène est marqué dans les vins de Merlot après FA et plutôt après 6 mois de conservation pour le Cabernet-Sauvignon. Dans le Cabernet, les teneurs augmentent légèrement au cours du temps et d'autant plus pour la modalité D4 et tendent à atteindre la valeur du seuil de perception de la MND.

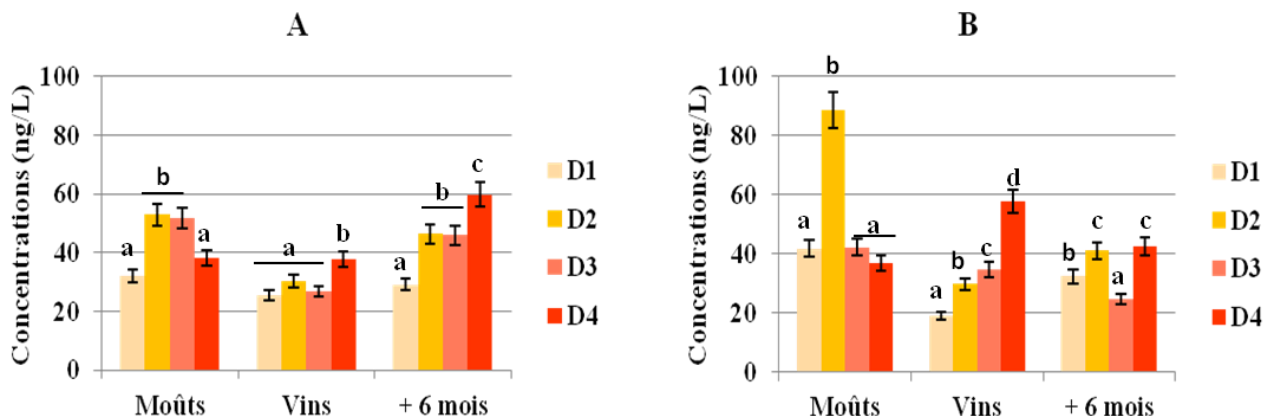


Figure 84 : Incidence de la date de récolte sur les teneurs en MND dans les moûts, les vins après FA (vins) et les vins après 6 mois de conservation en bouteille (+ 6 mois) de Cabernet-Sauvignon (A) et de Merlot (B). Les lettres « a » et « b » correspondant aux résultats du test statistique ANOVA ($\alpha=0,05$). n=4

III. Conclusion

Le choix de la date de récolte est un des moyens dont dispose l'œnologue pour moduler l'expression aromatique de ses vins. Les études réalisées sur deux millésimes, 2012 et 2014, et deux cépages, Merlot et Cabernet-Sauvignon, nous permettent de dresser un premier bilan de l'influence de la date de récolte sur l'arôme du moût et du vin, et également sur les teneurs en composés volatils associés au caractère fruits cuits des raisins et des vins rouges de bordeaux.

Au cours des essais de date de récolte du millésime 2012, nous mettons en évidence que les paramètres œnologiques courants des 3 échantillons issus de raisins récoltés à 4 jours d'intervalles à chaque fois varient peu.

En revanche, l'analyse sensorielle des vins de Cabernet-Sauvignon montre qu'un décalage de 4 jours suffit à diminuer l'intensité des nuances de fruits frais dans les vins. Un délai de 8 jours entre deux dates de récolte entraîne une augmentation significative des nuances de fruits cuits des vins.

Dans cet essai en champ, nous mettons en évidence que dans les moûts, seul le composé C-ZO19 semble être un marqueur de la maturité et permet de discriminer les dates de récolte.

Dans les vins, le furanéol, la γ -nonalactone, la MND et le composé C-ZO19 semblent être de bons marqueurs de la maturité. En revanche, seules les teneurs en furanéol sont retrouvées au-dessus du seuil de perception, et semblent donc impacter directement l'arôme du vin. Ces résultats suggèrent une modification importante des teneurs en précurseurs de ces composés au cours de la maturation.

Nous observons en 2014, un comportement différent ; un décalage de la cueillette des raisins se retrouve à la fois dans une modification de la composition des moûts et des vins et également dans l'expression des caractères végétal et fruits cuits. Ces observations, sont plus tranchées pour le Merlot que pour le Cabernet-Sauvignon. Les analyses quantitatives des composés volatils de l'essai en champ du millésime 2014 montrent que la γ -nonalactone et le composé C-ZO19, et dans une moindre mesure l'homofuranéol dans le Merlot, sont de bons marqueurs de la maturité des raisins en lien avec l'apparition des odeurs de fruits cuits.

Dans les vins, des teneurs plus importantes en massoia lactone, furanéol, MND, γ -nonalactone et composé C-ZO19 sont systématiquement retrouvées dans les modalités récoltées tardivement. En outre, seules les teneurs en γ -nonalactone, MND et furanéol dépassent leur seuil de perception.

Les nombreuses familles impliquées dans l'apparition du caractère fruits cuits des vins rendent compte de la complexité des phénomènes mis en jeu. Puisque des mécanismes biochimiques côtoient des réactions chimiques, les réactions d'oxydation probablement initiées par des activités enzymatiques ont lieu alors que d'autres font appel à des phénomènes de type réaction de Maillard.

L'ensemble de ces nouvelles connaissances nous a amené à suivre l'évolution de ces composés au cours du temps. Nous précisons ainsi l'instabilité au cours de la conservation en bouteille du furanéol et de l'homofuranéol. En revanche, la γ -nonalactone est un composé stable dans les conditions de conservation des vins en cave.

La 3-méthyl-2,4-nonanedione (MND) est un composé très odorant dont la teneur évolue au cours de la conservation en bouteille selon l'aptitude au vieillissement des vins (Pons *et al.*, 2013). Nous montrons de façon précise qu'une récolte tardive des raisins s'accompagne

systematiquement de teneurs en MND élevées dans les moûts et les vins et surtout d'une cinétique d'évolution plus rapide au cours de la conservation des vins.

CHAPITRE 10

INCIDENCE DE LA VINIFICATION DE QUANTITES CROISSANTES DE BAIES FLETRIES SUR L'AROME DES VINS. OBSERVATIONS SUR SON EVOLUTION AU COURS DU VIEILLISSEMENT EN BOUTEILLE

De nombreuses études se sont intéressées à l'impact du flétrissement des baies sur leur composition en composés d'arômes (Shivashankara *et al.*, 2013) et en composés phénoliques (Shivashankara *et al.*, 2013 ; Fang *et al.*, 2013 ; Krasnow *et al.*, 2009). Selon Krasnow *et al.* (2009), le flétrissement des baies peu avoir plusieurs origines. Le premier type de flétrissement correspond à une déshydratation tardive des baies. Le second type de flétrissement est associé au « coup de soleil » que certaines baies ou grappes peuvent subir lorsqu'elles sont directement au contact des rayons lumineux à la faveur d'un effeuillage trop sévère par exemple. Ce dernier est associé à une nécrose de la rafle dénommée « *dessèchement de la rafle* ». Il a pu être observé que ces deux derniers symptômes se manifestent après véraison lorsque les baies sont encore vertes ; ce dessèchement conduit à une diminution des sucres tandis que les raisins restent riches en acides organiques (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).

Le maître de chai méticuleux sait, de façon empirique, que ces baies desséchées peuvent modifier voire déprécier l'arôme de ses vins ; pour cela, il pratique un tri de la vendange avant de la mettre en cuve. Ainsi, l'observation faite par les praticiens a motivé ce travail dont l'objet consiste à étudier l'incidence de la présence de baies flétries sur la composition des vins issus de leurs vinifications.

Il s'agira également de déterminer le seuil à partir duquel la présence de baies flétries va modifier l'intensité des nuances fruits cuits des vins. Enfin, nous présentons les premiers résultats analytiques et sensoriels relatifs à l'évolution aromatique de ces vins au cours de la conservation en bouteille.

I. Protocole expérimental

Les raisins de Merlot vinifiés en 2012 dans les conditions proches de celles de la pratique, proviennent tous d'un même vignoble de l'appellation Pessac-Léognan. Les caractéristiques des micro-vinifications sont décrites dans la Partie 2.IV.2. Les grappes récoltées pour ces essais présentent des baies ayant différents niveaux de flétrissement. Pour la plupart d'entre elles, les grappes ne sont plus protégées des rayons lumineux, la surface foliaire étant limitée à leur proximité. Les pourcentages de vendanges flétries ont été estimés visuellement. Dans la mesure du possible, chaque grappe constitutive d'une modalité aura une intensité de flétrissement individuelle la plus proche possible du pourcentage souhaité.

Cinq micro-vinifications ont ainsi été réalisées au laboratoire à partir de ces raisins correspondant aux pourcentages de baies flétries suivant 0 %, 5 %, 10 %, 20 %, 60 %. Après l'achèvement des fermentations alcooliques et malolactiques, les vins obtenus sont sulfités et clarifiés naturellement avant d'être embouteillés. Des dégustations sont réalisées à intervalles réguliers.

II. Incidence de la présence de baies flétries sur la composition des moûts et des vins

Les résultats de l'analyse de la composition des moûts sont présentés dans le Tableau 65 (Laboratoire Sarco). On observe des variations dès lors que 5 % de la vendange est flétrie : augmentation de la concentration en sucres réducteurs (4%), de l'acidité totale, du pH, des teneurs en azote assimilable (23%) et une diminution de l'acide malique. La composition du moût reste stable jusqu'à 20% de baies flétries. A l'inverse, le bilan analytique de la vendange présentant 60% de baies flétries témoigne d'une composition singulière : augmentation de la concentration en sucres réducteurs (31,5%), de l'acidité totale, des teneurs en azote assimilable (62%) et diminution de l'acide malique et du pH.

Tableau 65 : Incidence de la présence de baies flétries sur la composition des moûts

Modalités	Sucres réducteurs (g/L)	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	pH	Azote Assimilable (mg/L N)	Acide Malique (g/L)	Acidité Volatile (g/L H ₂ SO ₄)
Témoin	219	2,48	3,56	71	1,91	0,28
5%	228,5	2,36	3,73	88	1,88	0,28
10%	228	2,43	3,7	81	1,76	0,27
20%	227,5	2,55	3,65	81	1,82	0,30
60%	288	3,21	3,35	186	0,47	0,51

La composition des vins issus de la vinification de ces modalités est présentée dans le Tableau 66. La présence de baies flétries permet d'augmenter le TAV tout en diminuant le pH. Dans la modalité à « 60% », la fermentation n'a pu aller jusqu'à son terme ; les teneurs en sucres réducteurs en fin de FA étaient de 9 g/L. Le vin obtenu présente une acidité totale et un TAV largement supérieurs aux autres modalités ; à l'inverse le pH et l'acide malique sont retrouvés à des valeurs inférieures aux autres modalités.

Tableau 66 : Incidence de la présence de baies flétries sur la composition des vins

Modalités	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	pH	Acide Malique (g/L)	TAV (20°C) %vol
Témoin	4,3	3,69	2,14	13,38
5 %	4,4	3,64	2,33	13,65
10 %	4,4	3,61	2,02	13,66
20 %	4,9	3,56	2,11	13,59
60 %	6,1	3,23	0,78	17,05

III. Analyses sensorielles des vins

Afin d'étudier l'incidence de la présence de petites quantités de baies flétries dans la vendange sur l'arôme des vins, nous avons tout d'abord demandé à un panel de 20 dégustateurs de différencier les modalités par l'application de tests triangulaires. Ces tests sont appliqués aux vins conservés 22 mois et 30 mois en bouteille (Tableau 67).

Tableau 67 : Résultats des tests triangulaires réalisés sur les vins après 22 mois et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=20

Vins	Témoin / 5 %	Témoin / 10 %	5 % / 10 %
22 mois	NB : 5	NB : 16	NB : 16
	<i>ns</i>	Significatif : p<0,001	Significatif : p<0,001
30 mois	NB : 6	NB : 15	NB : 17
	<i>ns</i>	Significatif : p<0,001	Significatif : p<0,001

NB : nombre de bonnes réponses - ns : non significatif

Les résultats révèlent que la modalité contenant 5% de baies flétries ne peut être différenciée (pour un niveau de probabilité de 95%) de la modalité témoin. A l'inverse, nous montrons que la modalité 10% est bien différenciée de la modalité témoin. De la même façon, le dernier test indique une différenciation nette des modalités 5% et 10% par une majorité de dégustateurs.

Après avoir mis en évidence des différences significatives entre les échantillons par l'application de tests discriminatifs, nous avons effectué des tests descriptifs. Après 7 mois, 22 mois et 30 mois de vieillissement en bouteille, les vins ont été soumis à l'analyse sensorielle par des tests de profils sensoriels. Il était demandé aux 20 dégustateurs du panel de juger sur une échelle de 0 à 10 l'intensité des nuances fruits cuits, végétales et fruits frais des cinq vins : le vin témoin (Témoin), le vin issu d'une vendange à 5% de baies flétries, le vin issu d'une vendange à 10% de baies flétries, le vin issu d'une vendange à 20% de baies flétries et le vin issu d'une vendange à 60% de baies flétries. Les résultats des profils sensoriels et de l'analyse statistique par l'ANOVA sont présentés dans la Figure 85.

Après 7 mois de vieillissement en bouteille (A), il n'existe pas de différences significatives pour les nuances végétales des vins, les nuances de fruits frais diminuent avec l'augmentation de baies sur-muries dans la vendange et les nuances fruits cuits sont significativement plus intenses dans la modalité à 60% de baies sur-muries.

Après 22 mois de vieillissement en bouteille (B), il n'existe pas de différences significatives entre les vins pour les nuances végétales et fruits frais. Seul le vin issu de 60% de baies sur-muries est différenciable des autres de part ses nuances de fruits cuits plus intenses que dans les autres vins.

Après 30 mois de vieillissement en bouteille (C), il n'existe toujours pas de différences significatives pour les nuances végétales. Les vins à 20% et 60% de baies sur-muries comportent les intensités moyennes de fruits frais les plus basses. Enfin, les nuances fruits cuits sont toujours plus intenses pour le vin à 60% de baies sur-muries et sont significativement plus élevées comparé aux autres vins.

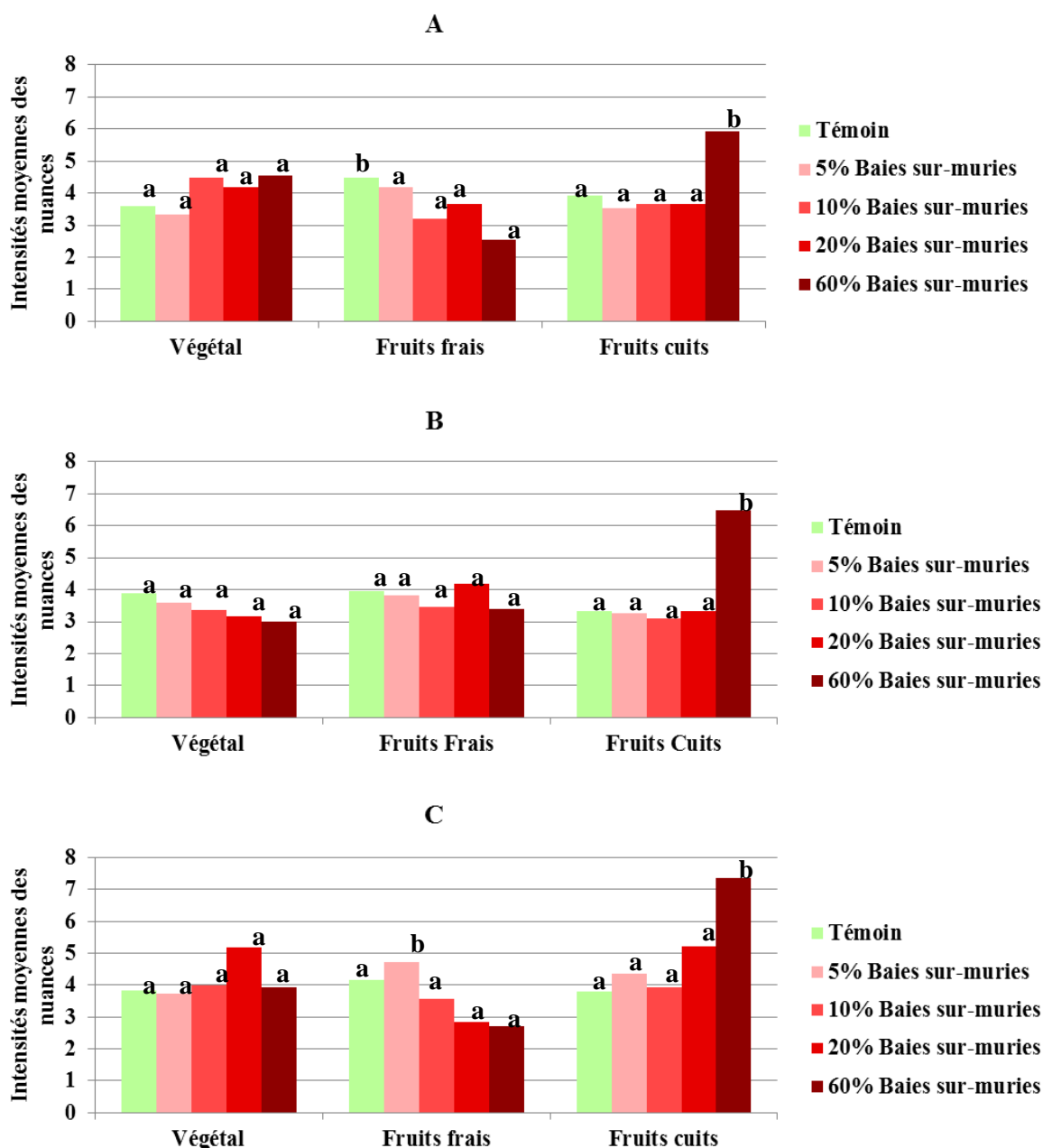


Figure 85 : Intensités moyennes des nuances végétales, fruits frais et fruits cuits des vins après 7 mois (A), 22 mois (B) et 30 mois (C) de vieillissement en bouteille. Les lettres « a » et « b » représentent les résultats de l'ANOVA ($\alpha=0.05$).

Les résultats de ces tests triangulaires montrent qu'il existe bien des différences significatives à la dégustation à partir de 10% de baies flétries dans la vendange ; pourtant, ces différences ne sont pas retrouvées lors des profils sensoriels. On peut donc émettre l'hypothèse que ces vins ne sont pas différenciables par les descripteurs de fruits frais, fruits cuits ou végétal dans les profils sensoriels demandés lors des dégustations.

IV. Approche analytique de l'étude de l'incidence de la présence de baies flétries sur l'arôme des moûts et des vins

Les analyses quantitatives des composés volatils d'intérêt ont été réalisées sur les prélèvements de moûts et de vins en fin de FML ainsi que de vins après 7 mois, 22 mois et 30 mois de vieillissement en bouteille. Suite à un problème d'échantillonnage, les analyses quantitatives des furanones (furanéol et homofuranéol), de MND ainsi que de la massoia lactone n'ont pu être réalisées sur les vins en fin de FA. Les dosages de la (Z)-1,5-octadien-3-one n'ont pu être réalisés.

1. La 3-methyl-2,4-nonanedione (MND)

Les dosages de la MND sont présentés dans la Figure 86. Dans le moût, les teneurs sont faibles et largement inférieures à son seuil de perception. Toutefois, nous montrons que la modalité contenant 60% de baies flétries, présente des teneurs en MND légèrement plus importantes (30 ng/L). Cette tendance est confirmée au cours du vieillissement en bouteille. En effet, les dosages du prélèvement 7 mois après l'embouteillage, montrent que plus la vendange est flétrie, plus le risque de retrouver de la MND dans le vin est accrue. Au cours du temps, les variations des teneurs en MND entre les modalités témoin, 5%, 10% et 20% s'atténuent et tendent à se stabiliser autour de 20 ng/L. En revanche, la modalité à 60% de baies sur-muries présente systématiquement des teneurs élevées comprises entre 46 ng/L et 74 ng/L.

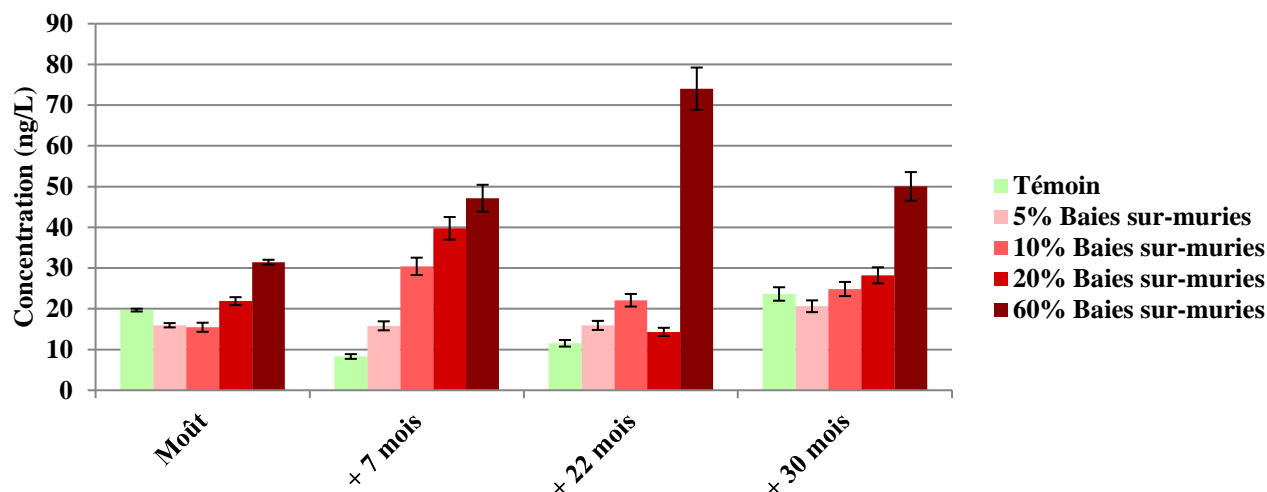


Figure 86 : Effet de la présence de baies flétries sur l'évolution des teneurs en 3-méthyl-2,4-nonanedione dans les moûts et les vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2

2. Les lactones

Les résultats des dosages de la γ -nonalactone dans les moûts et les vins conservés en bouteille sont présentés dans la Figure 88. Dans les moûts analysés, les teneurs sont très faibles (quelques $\mu\text{g/L}$) excepté pour la modalité à 60% dont les teneurs avoisinent 10 $\mu\text{g/L}$. Dans les vins, les teneurs sont plus importantes. Ce résultat n'est pas surprenant au regard des observations effectuées précédemment. Toutefois, elles ne dépassent pas 25 $\mu\text{g/L}$ pour la plupart des modalités ; en revanche elles atteignent 143 $\mu\text{g/L}$ pour la modalité à 60%. Au regard de son seuil de perception (25 $\mu\text{g/L}$), une telle concentration doit très certainement impacter la perception de l'arôme fruit cuit du vin.

Une approche permettant de prendre en compte le pouvoir odorant des composés volatils et d'estimer leur degré d'impact olfactif est la détermination du nombre d'unités d'odeurs, également appelé OAV pour *odor activity value*. Le calcul des OAV consiste à diviser la concentration du composé volatil dans une matrice donnée par son seuil de perception (Rothe et Thomas, 1963 ; Guadagni *et al.*, 1966). Seuls les composés volatils ayant une OAV supérieure à 1 auront un impact olfactif, d'autant plus important que leur OAV sera élevée. Lorsque l'on calcule l'OAV pour la modalité à 60%, il est de 5,72. Dans cette modalité, la γ -nonalactone impacte fortement sur l'arôme des vins.

Dans une moindre mesure, la γ -nonalactone pourrait avoir un impact direct sur les nuances fruits cuits retrouvées dans les vins lorsque la vendange atteint 20% de baies flétries en fin de FML et après 7 mois de vieillissement en bouteille (OAV proche de 1,2). De manière générale, on observe une corrélation entre les concentrations en γ -nonalactone et le pourcentage de vendange flétrie ; plus la vendange présente le symptôme de flétrissement des baies, plus les concentrations en γ -nonalactone sont importantes.

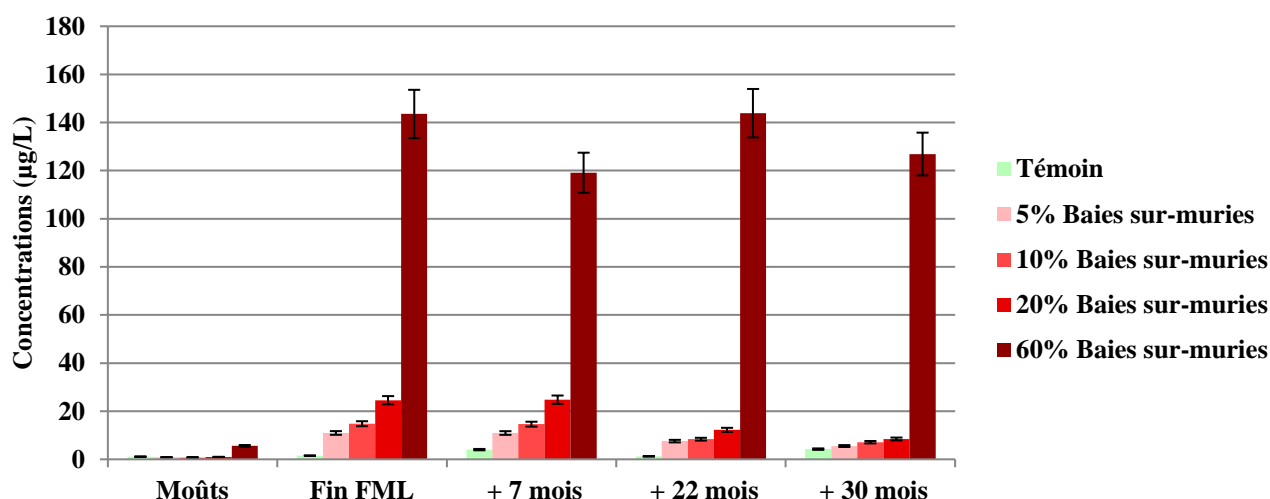


Figure 87 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur les teneurs en γ -nonalactone des moûts et des vins en fin de FA et après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2

Les teneurs en massoia lactone dans les moûts (Figure 88) sont comprises entre 2 et 15,4 $\mu\text{g/L}$. Le moût de la modalité à 20% de baies sur-muries contient de façon surprenante très peu de massoia lactone comparé aux autres modalités. A 60% de baies flétries dans la vendange, les teneurs dépassent son seuil de perception dans le moût (10 $\mu\text{g/L}$). Au cours du vieillissement en bouteille, les teneurs de l'ensemble des modalités sont proches hormis celle à 60% qui présente les teneurs les plus élevées tout au long de la conservation en bouteille.

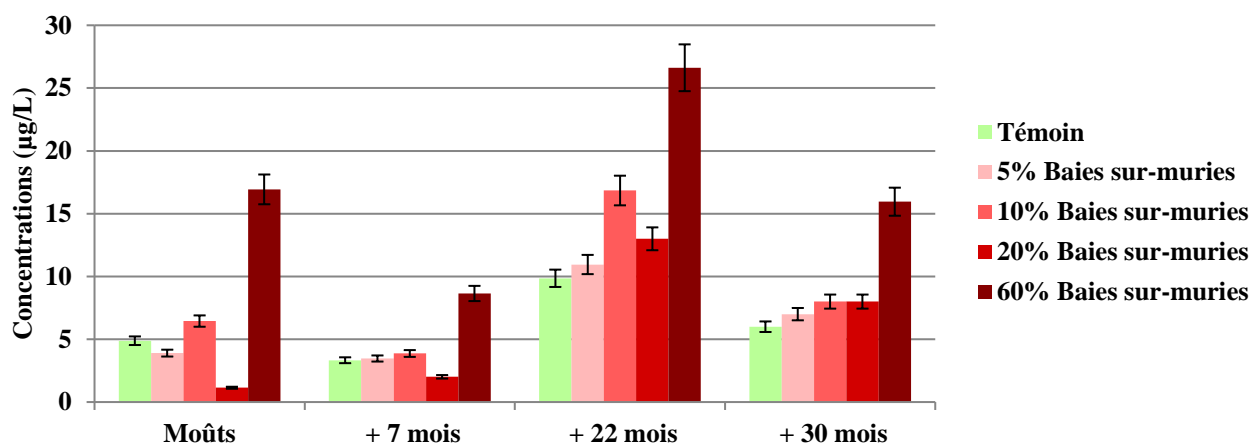


Figure 88 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies sur-muries sur les teneurs en massoia lactone dans les moûts et les vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2

3. Les furanones

Les dosages du furanéol (Figure 89) dans les moûts valident l'incidence de la sur-maturation sur le furanéol car les concentrations sont corrélées avec l'augmentation du pourcentage de baies sur-muries dans la vendange (matrice des corrélations- Pearson (n) : $r^2=0,896$). Les teneurs retrouvées dans les vins sont importantes et semblent augmenter au cours du vieillissement en bouteille. La modalité à 60% de baies sur-muries contient entre 4 et 8 fois plus de furanéol que les autres modalités. L'OAV de la modalité à 60% passe de 3,1 après 22 mois de vieillissement en bouteille à 10,4 après 30 mois de vieillissement en bouteille. En effet, après 30 mois de conservation, la teneur maximale en furaneol, retrouvée dans la modalité 60%, dépasse 500 µg/L. Ce résultat suggère la présence de formes précurseur du furanéol de type glycosylées (Bertrand, 1983), retrouvées en concentrations importantes dans les baies flétries qui seraient susceptibles de le libérer à la faveur d'une conservation en bouteille. Nous observons qu'après 30 mois de vieillissement en bouteille, dès 10 % de vendange flétrie, l'OAV est supérieure à 1 ; il suffit de 10% de vendange flétrie pour que le furanéol impacte directement l'arôme des vins.

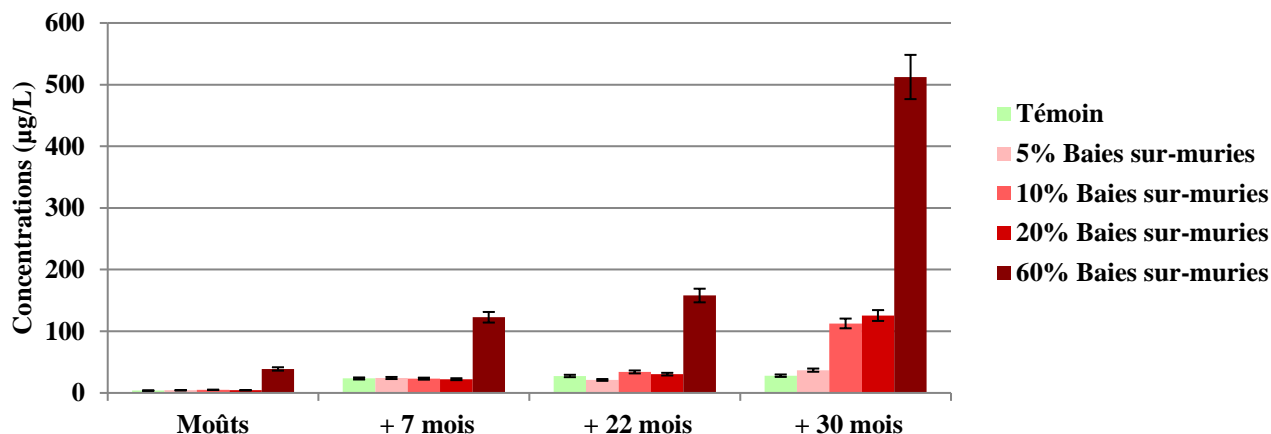


Figure 89 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur les teneurs en furanéoel dans les moûts et les vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2

Les dosages de l'homofuranéoel (Figure 90) dans les moûts montrent que ses teneurs ne varient pas beaucoup selon les modalités (entre 2 et 3 µg/L). Après 7 mois de conservation en bouteille, les teneurs dans les vins sont plus importantes ; la fermentation alcoolique permet de produire ce composé. Il semble que, à l'inverse du furanéoel, la modalité renfermant 60% de baies flétries ne contienne pas plus de précurseurs de cette furanone que les autres modalités. Au cours de la conservation en bouteille les teneurs restent faibles (< Sp 26,5 µg/L), son impact aromatique demeure faible.

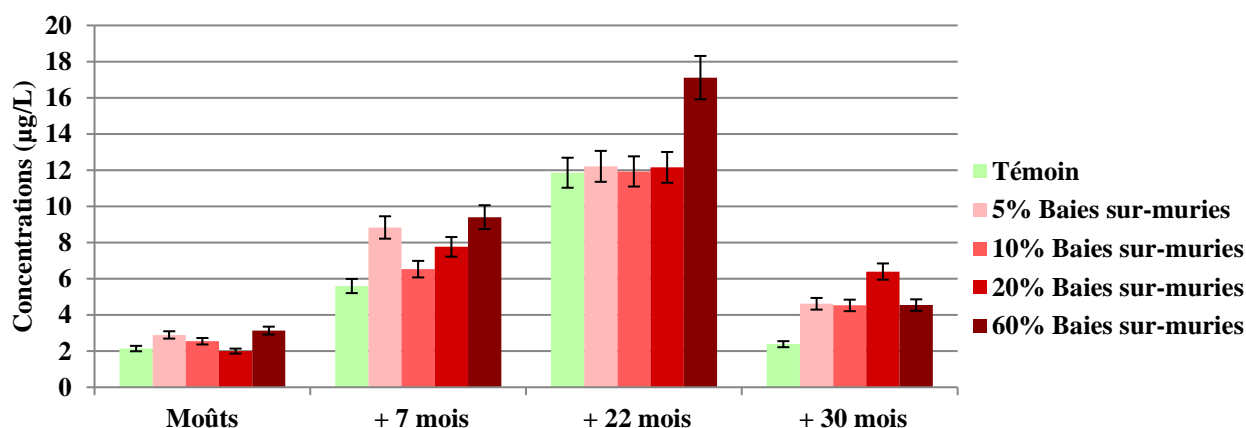


Figure 90 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur les teneurs en homofuranéoel des moûts et des vins après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2

4. Le composé associé à la ZO19 (C-ZO19)

Pour finir, les dosages du composé C-ZO19 (Figure 91) montrent que ce composé est retrouvé majoritairement dans les moûts issus d'une majorité de raisins flétris. Tout comme les autres lactones, il est libéré au cours de la FA et le rapport de l'intégration de l'aire sur l'étalon interne est corrélé avec le pourcentage de baies flétries en fin de FML (matrice des corrélations-Pearson (n) : $r^2=0,752$). On observe qu'avec le temps, entre le vin à 7 mois de vieillissement en bouteille et le vin à 22 mois de vieillissement en bouteille, le rapport du composé C-ZO19 augmente. Entre 22 et 30 mois, les teneurs restent constantes. Aussi, au cours du vieillissement en bouteille, les teneurs dans les vins restent bien corrélées avec le pourcentage de baies flétries dans la vendanges : $r^2=0,852$, $r^2=0,904$ et $r^2 = 0,889$ pour les vins +7mois, +22mois et +30mois respectivement.

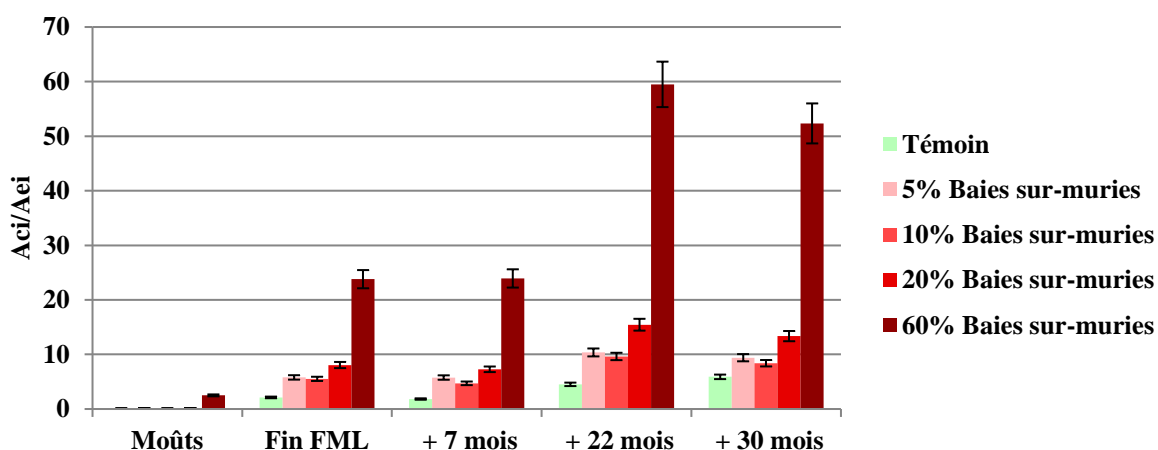


Figure 91 : Effet de l'addition de quantités croissantes de baies flétries sur le rapport de l'aire du composé C-ZO19 sur l'étalon interne dans les moûts et les vins en fin de FA et après 7 mois, 22 mois, et 30 mois de vieillissement en bouteille. n=2

V. Analyses en composantes principales des données sensorielles et quantitatives

Des analyses en composantes principales ont été réalisées et sont présentées dans la Figure 92. On montre que les nuances de fruits cuits dans les vins sont bien corrélées avec les composés volatils d'intérêt ce qui conforte la pertinence de nos résultats précédents. D'autres part, ces nuances sont systématiquement anti-corrélées avec les odeurs de fruits frais. Ces tendances sont observées tout au long du vieillissement en bouteille.

Au cours du temps, on remarque que les variables sont moins bien représentées ; on passe de 98,31% à 78,45%. De plus, les variables des composés volatils sont, elles aussi, de moins en moins bien représentées sur les axes. Au bout de plusieurs mois passés en bouteille, l'expression aromatique des vins se complexifie et le bouquet de vieillissement des vins se développe. Le jugement du panel, habitué à la dégustation des vins jeunes, a peut être évolué. Aussi, la composition en composés volatils a changé, les nuances de fruits cuits évoluent.

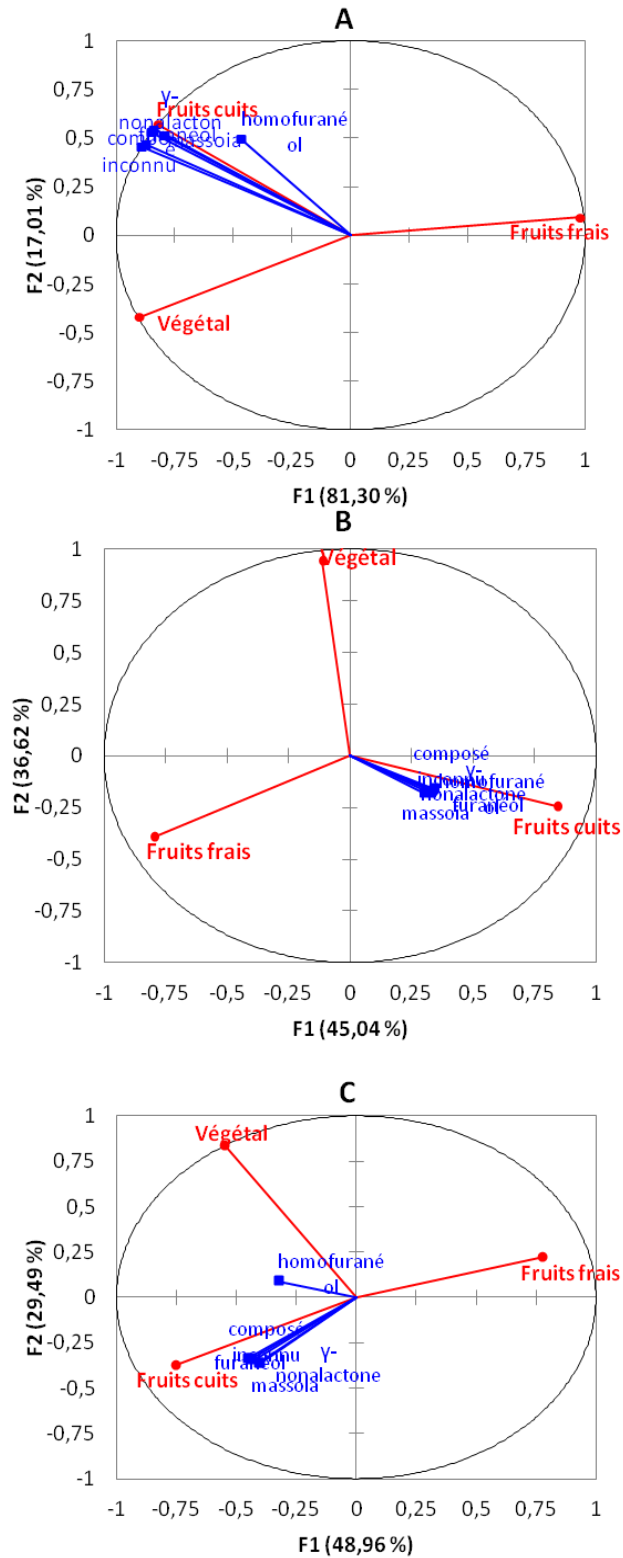


Figure 92 : Représentation en ACP des résultats des analyses sensorielles (en rouge, variables) et des analyses quantitatives (en bleu, variables supplémentaires) des vins après 7 mois (A), 22 mois (B) et 30 mois (C) de vieillissement en bouteille

VI. Conclusion

Des micro-vinifications de vendanges comportant un pourcentage croissant de baies flétries au laboratoire ont été réalisées. Les profils sensoriels des vins issus de ces expériences montrent des différences significatives uniquement entre les vins issus de 60% de vendange flétrie et les autres. En revanche, nous mettons en évidence, par la réalisation de tests triangulaires, l'existence d'un seuil estimé à 10% en dessous duquel la présence de baies flétries n'affecte pas l'arôme du vin.

Les analyses quantitatives ont été réalisées et montrent que les teneurs en MND, γ -nonalactone, massoia lactone, composé C-ZO19 ainsi qu'en furanéol sont modifiées avec le pourcentage croissant de baies flétries dans la vendange. Au regard de leurs concentrations dans les vins jeunes et ceux plus âgés, la majeure partie de ces composés ne contribuent pas directement à l'arôme de fruits cuits de ces vins. D'ailleurs, nos analyses montrent que leurs concentrations tendent à diminuer au cours du temps. En revanche, nous montrons clairement que le furanéol et la γ -nonalactone, présentant des indices aromatiques supérieurs à 5 jouent un rôle prépondérant et stable dans la perception de l'arôme de fruits cuits des vins jeunes et ceux conservés plusieurs années en bouteilles.

Ce travail nous permet également de valider l'intérêt que nous apportons à l'étude du composé C-ZO19. En effet, cette étude montre les liens forts qui existent entre la présence de baies flétries dans la vendange, l'intensité du caractère fruits cuits et la teneur en ce composé.

Bien entendu, le résultat le plus marquant de cette expérimentation concerne la modalité présentant 60% de baies flétries. Rares sont les viticulteurs récoltant leurs raisins dans cet état compte tenu de la perte en rendement associé à la récolte de raisins flétris. En revanche, dans une démarche de prolongement naturel du phénomène de maturation vers ce que nous avons défini dans les chapitres précédent comme la sur-maturation, il est coutume dans certaines appellations de trouver des vignobles où l'ensemble des baies soit sujet à une légère déshydratation générant les nuances aromatiques ainsi que les composés odorants que nous venons d'étudier.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

L'arôme des vins rouges de Bordeaux offre une palette aromatique très vaste dont les dégustateurs avertis reconnaissent les différentes nuances, d'herbacées à fruitées, évoquant le poivron vert, le cassis, la mûre ou encore la figue et le pruneau. L'expression aromatique de ces vins est intimement liée à l'état de maturité des raisins. A ce jour, les marqueurs moléculaires de ces nuances singulières de fruits cuits, retrouvées dans les moûts et les vins rouges de Merlot et de Cabernet-Sauvignon, sont inconnus. L'objectif de ce travail est donc de les identifier et d'étudier leur voie de formation ainsi que les facteurs pédoclimatiques favorisant leur apparition dans le raisin et le vin.

Ce travail de recherche a débuté par l'étude de la typicité aromatique des vins rouges d'une appellation bordelaise, vins élaborés principalement à partir de raisins de Merlot. Pour les millésimes 2009 et 2010, nous montrons que le jury d'experts s'accorde pour définir ce qu'est un vin typique de cette appellation. Lorsque les odeurs fruits cuits et boisées sont assimilées au type de ces vins, il apparaît également que le jury arrive à les discriminer nettement des vins hors appellation. Ces odeurs participent à la singularité olfactive des vins de cette appellation. Ce jugement devient problématique lorsque l'on confronte l'appréciation des vins à dominante fruits cuits avec celle d'un vin oxydé issus de cette même appellation. Les dégustateurs qui assimilent le caractère fruits cuits à la typicité de ces vins jeunes ont tendance à associer également le caractère évolué des vins plus âgés à cette définition.

Par la suite, nous nous sommes engagés dans une démarche de caractérisation des composés associés aux odeurs de fruits cuits des moûts et des vins. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection olfactométrique (CPG-O) d'extraits organiques de moûts et de vins marqués ou non par ces nuances nous a permis de confirmer la présence de 20 zones odorantes spécifiques (ZO). Par la suite, un travail d'identification fut mené grâce à l'utilisation des techniques de chromatographie monodimensionnelle en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), complétée par une approche bidimensionnelle (CPG-CPG-TOF-SM) pour les composés coélués. Ainsi, nous avons pu identifier 10 zones odorantes. Le développement et l'optimisation de méthodes en CPG-SM ont permis de quantifier de façon sensible et répétable ces composés odorants. Les indices aromatiques calculés pour les composés volatils identifiés montrent que six d'entre eux contribuent à l'arôme des moûts et des vins marqués par des nuances de fruits cuits.

Parmi les zones odorantes identifiées, le *furanéol* (ZO2) et l'*homofuranéol* (ZO3), rappellent des odeurs de sucre cuit. La détermination des seuils de perception en solutions modèles de moût et de vins permettent de confirmer que le furanéol contribue à l'arôme des moûts et des vins marqués par des arômes de fruits cuits. Le plus souvent, l'homofuranéol semble contribuer indirectement à ces odeurs en renforçant celle de son homologue par un effet d'additivité. Nous montrons que la dégradation de glucose et de fructose en solution aqueuse acidifiée permet de produire des quantités non négligeables de furanéol et dans une moindre mesure d'homofuranéol ; des pH élevés favorisent leur formation.

Deux lactones ont également été identifiées.

La γ -nonalactone (ZO10) rappelle la noix de coco et la pêche cuite lorsqu'elle est diluée. Elle est retrouvée à des teneurs faibles dans les moûts mais en quantités toujours plus importantes dans ceux présentant des arômes de fruits cuits. Dans les vins marqués par ces nuances, ses teneurs peuvent atteindre 140 $\mu\text{g/L}$, dépassant ainsi son seuil de perception (Sp 25 $\mu\text{g/L}$) : elle contribue donc à l'arôme de ces vins. Cette lactone possède un centre d'asymétrie. Nous montrons que la distribution moyenne dans les vins de ses énantiomères obtenue par analyse chirale en CPG-CPG-SM est de 70% (*R*) et 30 % (*S*). Nous avons déterminé leur seuil de perception ainsi que leur descripteur aromatique. Ils présentent des odeurs similaires alors que le seuil de la forme (*R*) est de 66 $\mu\text{g/L}$ et celui de la forme (*S*) de 35 $\mu\text{g/L}$. Nous avons également déterminé le seuil de perception de la γ -nonalactone présentant un mélange 70/30 de ses énantiomères (*R/S*) ; il est de 41 $\mu\text{g/L}$. Par ailleurs, nous montrons qu'en conditions œnologiques, la biotransformation de l'acide linoléique par levure permet d'expliquer sa présence dans les vins.

Nous présentons aussi les résultats concernant la *massoia lactone* (ZO20). Cette lactone insaturée, dont l'odeur évoque la figue et la noix de coco, est retrouvée à teneurs importantes dans les moûts marqués par des odeurs de fruits cuits. Dans les vins, ses teneurs sont le plus souvent faibles, en dessous de son seuil de perception (Sp 11 $\mu\text{g/L}$). La réduction de ce composé au cours du métabolisme levurien en δ -décalactone, peu odorante, permet d'expliquer cette observation.

La ZO19 évoque des odeurs intenses de fruits cuits. Elle est retrouvée uniquement dans les échantillons de moût et de vin marqués par ces odeurs. Elle a fait l'objet d'un travail d'identification puisque son spectre de masse ne figure pas dans les bases de données

commerciales. L'interprétation de son spectre de fragmentation nous enseigne que ce composé est probablement une lactone. Toutefois, sa structure exacte demeure à ce jour incertaine. Néanmoins, nous confirmons son intérêt par des analyses semi-quantitatives puisque ce composé est retrouvé en quantité importante dans les moûts et les vins marqués par des arômes de fruits cuits.

Enfin, les travaux d'identification ont permis de mettre en évidence deux cétones : la (*Z*)-1,5-octadien-3-one (ZO18) et la 3-méthyl-2,4-nonanedione (ZO6 et ZO9).

La (*Z*)-1,5-octadien-3-one est identifiée pour la première fois dans les moûts et les vins rouges élaborés à partir de raisins sur-muris. Ce composé, évoquant le géranium, est extrêmement odorant (Sp moût : 9 ng/L). L'optimisation des paramètres d'extraction par SPME et de quantification par CPG-SM-CI avec le méthanol comme gaz réactant nous a permis de reporter pour la première fois ses concentrations dans les moûts. Il est retrouvé dans tous les moûts à des teneurs le plus souvent inférieures à 20 ng/L. Dans ceux marqués par des odeurs de fruits cuits, ses concentrations peuvent atteindre 100 ng/L. Une approche sensorielle nous a également éclairés sur la contribution organoleptique de ce composé à l'odeur de géranium, dans les moûts présentant une odeur de fruits cuits. A des teneurs comprises entre 64 et 96 ng/L, ce composé contribue à l'arôme de figue sèche des moûts tandis que ses teneurs plus élevées confèrent à l'échantillon un caractère géranium dominant.

La 3-méthyl-2,4-nonanedione (MND) évoque le noyau de pruneau ; elle contribue à l'arôme de fruits cuits des vins prématurément vieillis. Dans ce travail, nous précisons son rôle dans les moûts et les vins jeunes marqués par des nuances de fruits cuits. Nous montrons que ses teneurs sont généralement plus élevées dans les moûts et les vins marqués par ces odeurs comparées aux échantillons témoin. Toutefois, aux concentrations rencontrées, le plus souvent inférieures à son seuil de perception, ce composé ne contribue pas de manière directe à ces nuances.

Ces travaux de caractérisation soulignent la diversité des composés odorants impliqués dans la perception des nuances fruits cuits des moûts et des vins. Nous montrons également que la supplémentation d'un vin rouge témoin, dépourvu des nuances de fruits cuits, en furanéol, homofuranéol, γ -nonalactone et MND à des concentrations similaires à celles retrouvées dans un vin rouge présentant ces arômes, permet de reproduire de façon très nette ces tonalités aromatiques de fruits cuits. Ces résultats suggèrent également l'existence de phénomènes d'interactions perceptives entre ces composés.

La connaissance de marqueurs spécifiques de ces nuances nous a permis d'étudier certains paramètres conditionnant la qualité des raisins au vignoble. Nous avons étudié, en conditions contrôlées au laboratoire, l'influence de la lumière au cours du passerillage de baies de Merlot et de Cabernet-Sauvignon sur l'arôme et la composition des moûts et des vins.

Tout d'abord, d'un point de vue sensoriel, nous montrons que le passerillage favorise l'apparition des nuances de fruits cuits à la fois dans les raisins de Merlot et de Cabernet Sauvignon et les vins correspondant. L'intensité de ces nuances est plus importante dans les vins de Merlot lorsque les raisins sont passerillés en présence de lumière comparativement à ceux passerillés dans l'obscurité. Les résultats de ces observations sont inversés pour les vins élaborés à partir de raisins de Cabernet-Sauvignon.

Au niveau moléculaire, nous montrons que le passerillage en présence de lumière favorise la formation du furanéol, de l'homofuranéol, de la γ -nonalactone, la MND et la (Z)-1,5-octadien-3-one. A l'inverse, la massoia lactone est retrouvée à des teneurs beaucoup plus importantes dans les modalités passerillées dans l'obscurité. Nous mettons également en évidence que la (Z)-1,5-octadien-3-one est retrouvée à des concentrations plus de dix fois plus élevées dans les moûts de Merlot que dans ceux de Cabernet-Sauvignon.

Au final, il semble que la présence de ces composés témoigne d'un état physiologique particulier de la baie de raisin en lien avec la présence de lumière. Aussi, pour confirmer ce postulat, nous avons appliqué ces dosages à l'étude de la maturité des raisins en champ.

Dans ce travail, nous démontrons l'importance du choix de la date de récolte sur l'arôme du moût et du vin. Pour ce faire, deux expérimentations ont été menées : l'une sur une parcelle de Cabernet-Sauvignon pour le millésime 2012, l'autre en 2014 sur des parcelles de Merlot et de Cabernet-Sauvignon. Les essais en champ réalisés au cours du millésime 2012 montrent qu'un délai de 8 jours entre 2 dates de récoltes modifie significativement l'intensité des nuances de fruits cuits perçues dans les moûts et les vins. L'analyse des échantillons de moûts nous révèle que seul le composé associé à la ZO19 permet de discriminer les dates de récoltes entre elles ; c'est un bon indicateur de la maturité des raisins. Dans les vins, le furanéol, la γ -nonalactone, la MND et le composé associé à la ZO19 semblent être de bons indicateurs du niveau de maturité. Toutefois, seules les teneurs en furanéol dépassent son seuil de perception.

Les résultats des expériences réalisées au cours du millésime 2014 nous permettent de confirmer que le composé associé à la ZO19 est un bon marqueur de la maturité des raisins. Dans les vins issus de la vinification des raisins récoltés les plus tardivement, les teneurs en

furanéol, massoia lactone et en γ -nonalactone dépassent leur seuil de perception et contribuent aux nuances fruits cuits de ces vins.

Les vins issus de cette dernière expérimentation ont été conservés en bouteille durant 6 mois. Il n'est pas étonnant de constater que, durant les premiers mois de vieillissement en bouteille, l'intensité du caractère fruits cuits du vin n'est pas altérée. Toutefois, la signature moléculaire de ces nuances évolue puisque nous montrons que les lactones sont stables au cours du temps, les furanones tendent à diminuer dans le Merlot et le Cabernet-Sauvignon alors que la concentration en MND augmente dans les vins de Cabernet-Sauvignon. Au final, nous suggérons également que des teneurs importantes en MND retrouvées précocement dans les modalités récoltées tardivement puissent entamer l'aptitude à la garde des vins.

En complément de l'étude de l'effet de la date de récolte sur l'arôme des moûts et des vins, nous proposons d'aborder le cas particulier de la vinification de raisins flétris naturellement sur souche. Des micro-vinifications ont été réalisées au laboratoire à partir de teneurs croissantes en baies de Merlot flétries. Nous montrons que les teneurs du composé associé à la ZO19 sont modifiées selon la quantité de baies flétries présentes dans la vendange. Nous montrons que le furanéol ainsi que la γ -nonalactone jouent un rôle prépondérant dans la perception de l'arôme de fruits cuits des moûts et des vins issus de raisins flétris.

Ces résultats nous permettent également de tirer un enseignement pratique pour le vinificateur. Nous montrons que le seuil maximal en dessous duquel la présence de baies flétries n'affecte pas l'arôme du vin est de 10 %.

Plusieurs points de ce travail restent aujourd'hui à approfondir.

Il s'agira tout d'abord de reproduire sur d'autres millésimes le travail relatif à l'étude de l'effet de la date de récolte sur les composés identifiés afin de confirmer définitivement leur intérêt.

L'ensemble de nos travaux justifie la nécessité de poursuivre le travail d'identification du composé associé à la ZO 19. Seule son identification nous permettra d'évaluer son impact sensoriel pour au final remonter à son origine.

D'autre part, un travail analytique d'optimisation des conditions de préparation d'échantillon doit nous permettre de doser la (Z)-1,5-octadien-3-one (ZO 18) dans les vins afin de préciser son impact organoleptique mais également d'étudier ses mécanismes de formation.

Parmi les composés clés identifiés, figurent des cétones et des lactones dont le dénominateur commun se retrouve probablement dans leur genèse : ils proviendraient tous de la dégradation d'acides gras insaturés. Aussi, il pourrait être judicieux de mieux connaître ces composés pour entreprendre un travail de recherche en lien avec l'étude de la biotransformation de ces précurseurs d'arômes au cours de la maturation des baies mais également au cours du processus fermentaire.

Enfin, l'étude de la maturation des raisins pourrait être abordée sous l'angle de l'analyse non ciblée par l'outil CPG Comprehensive (CPGxCPG). Cette approche complémentaire pourrait nous permettre de caractériser un état physiologique précis du raisin par un ensemble de composés volatils pertinents. Cette connaissance, complétant celle acquise au cours de ce travail, permettrait à terme de disposer d'un outil donnant l'opportunité au praticien d'appréhender plus finement le choix de la date de récolte selon le style de vin qu'il veut élaborer.

ANNEXES

ANNEXE 1**NOM :****Seuil de perception***Test triangulaire olfactif*

Après avoir fait l'analyse olfactive des échantillons dans l'ordre indiqué sur votre feuille, veuillez cocher l'échantillon qui vous paraît différent

N° POSTES			
1	458	104	125
2	257	784	285
3	104	125	458
4	208	177	748
5	987	490	107
6	002	145	718
7	345	627	106
8	114	752	487

ANNEXE 2**NOM :****TEST TRIANGULAIRE OLFACTIF**

Après avoir fait l'analyse olfactive des échantillons dans l'ordre indiqué sur votre feuille, veuillez cocher l'échantillon qui vous paraît différent

N° POSTES			
1	439	804	730
2	388	938	890
3	907	144	188

ANNEXE 3 : Table de significativité du test triangulaire

Nombre de réponses exprimées	Nb de réponses correctes nécessaire pour conclure à une différence significative. Seuils de confiance.		
	0,95	0,99	0,999
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
25	13	15	17
30	16	17	19
40	20	22	24
50	24	26	28
75	34	36	39
100	43	46	49

ANNEXE 4

Veillez noter sur une échelle de 0 à 10 l'intensité des descripteurs donnés sur les quatre échantillons.

ECHANTILLON 145

<u>Végétal</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(Herbacé, poivron vert...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Fruits Frais</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Framboise, cassis...)											

<u>Fruits Cuits</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Confiture de fraise, figue, pruneau, noyaux de fruits...)											

ECHANTILLON 674

<u>Végétal</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(Herbacé, poivron vert...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Fruits Frais</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Framboise, cassis...)											

<u>Fruits Cuits</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Confiture de fraise, figue, pruneau, noyaux de fruits...)											

ECHANTILLON 822

<u>Végétal</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(Herbacé, poivron vert...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Fruits Frais</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Framboise, cassis...)											

<u>Fruits Cuits</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Confiture de fraise, figue, pruneau, noyaux de fruits...)											

ECHANTILLON 736

<u>Végétal</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>(Herbacé, poivron vert...)</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<u>Fruits Frais</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>(Framboise, cassis...)</i>											
<u>Fruits Cuits</u>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>(Confiture de fraise, figue, pruneau, noyaux de fruits...)</i>											

ANNEXE 5

Evaluation ORTHONASALE

Vous devez déterminer pour ces échantillons les intensités des descripteurs « FRUITS CUITS » et « OXYDE »

Le descripteur de « fruits cuits » est associé aux odeurs évoquant la confiture de fraise, la figue, le pruneau ou encore les noyaux de fruits.

Echantillon n° : 152

« Fruits cuits»
 Peu intense |-----| Très intense

« Oxydation»
 Peu intense |-----| Très intense

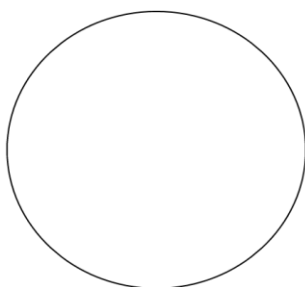
Echantillon n° : 678

« Fruits cuits»
 Peu intense |-----| Très intense

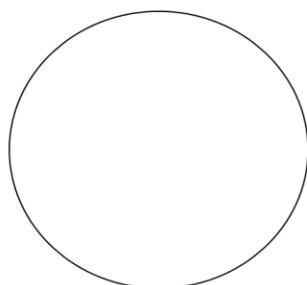
« Oxydation»
 Peu intense |-----| Très intense

ANNEXE 6

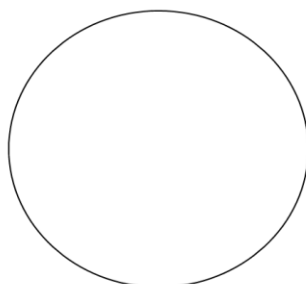
N° de poste : 1
Série : 1



458



104



125

ANNEXE 7**NOM :****Prénom :****Série : 1****n° de poste :1****Evaluation orthonasale**

Imaginez que vous deviez expliquer à un ami ce qu'est un vin typique de l'appellation A. Pour lui expliquer, vous avez la possibilité de lui faire déguster un vin. Pour chaque vin qui vous sera présenté, nous vous demandons de répondre à la question suivante : considérez vous que ce vin est un bon ou un mauvais exemple pour expliquer à votre ami ce qu'est un vin typique de l'appellation A ?

Dans les échantillons qui vous seront présentés, il y a des vins issus de l'appellation A et d'autres n'en faisant pas partie. Pour des raisons diverses liées aux pratiques culturelles ou œnologiques, il n'est pas exclu qu'un vin issu de la région de A ne vous semble pas être un bon exemple de typicité et au contraire, qu'un vin venant d'une autre région puisse vous sembler en être un. Nous nous intéressons à **votre opinion personnelle**.

La deuxième partie de l'évaluation consiste à déterminer pour ces mêmes échantillons les intensités des descripteurs « fruits frais », « fruits cuits », « végétal » et « boisé ».

Echantillon n° : 458

« Typicité »	Très mauvais exemple	Très bon exemple
« Fruits frais » (Framboise, cassis...)	Peu intense	Très intense
« Fruits cuits » (Confiture fraise, figue, fruits au sirop...)	Peu intense	Très intense
« Végétal » (Herbacé, poivron, lierre)	Peu intense	Très intense
« Boisé » (Empyreumatique, vanille...)	Peu intense	Très intense

Echantillon n° : 104

« Typicité »	Très mauvais exemple	Très bon exemple
« Fruits frais » (Framboise, cassis...)	Peu intense	Très intense
« Fruits cuits » (Confiture fraise, figue, fruits au sirop...)	Peu intense	Très intense
« Végétal » (Herbacé, poivron, lierre)	Peu intense	Très intense
« Boisé » (Empyreumatique, vanille...)	Peu intense	Très intense

Echantillon n° : 125

« Typicité »	Très mauvais exemple	Très bon exemple
« Fruits frais » (Framboise, cassis...)	Peu intense	Très intense
« Fruits cuits » (Confiture fraise, figue, fruits au sirop...)	Peu intense	Très intense

« Végétal »
(Herbacé, poivron, lierre) Peu intense Très intense

« Boisé »
(Empyreumatique, vanille...) Peu intense Très intense

Echantillon n° : 257

« Typicité »
Très mauvais exemple Très bon exemple

« Fruits frais »
(Framboise, cassis...) Peu intense Très intense

« Fruits cuits »
(Confiture fraise, figue, fruits au sirop...) Peu intense Très intense

« Végétal »
(Herbacé, poivron, lierre) Peu intense Très intense

« Boisé »
(Empyreumatique, vanille...) Peu intense Très intense

Echantillon n° : 784

« Typicité »
Très mauvais exemple Très bon exemple

« Fruits frais »
(Framboise, cassis...) Peu intense Très intense

« Fruits cuits »
(Confiture fraise, figue, fruits au sirop...) Peu intense Très intense

« Végétal »
(Herbacé, poivron, lierre) Peu intense Très intense

« Boisé »
(Empyreumatique, vanille...) Peu intense Très intense

Echantillon n° : 285

« Typicité »	Très mauvais exemple	Très bon exemple
« Fruits frais » (Framboise, cassis...)	Peu intense	Très intense
« Fruits cuits » (Confiture fraise, figue, fruits au sirop...)	Peu intense	Très intense
« Végétal » (Herbacé, poivron, lierre)	Peu intense	Très intense
« Boisé » (Empyreumatique, vanille...)	Peu intense	Très intense

ANNEXE 8 :

NOM :

Veillez noter sur une échelle de 0 à 10 l'intensité des descripteurs donnés sur les six échantillons.

<u>Rose</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
015	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
616	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
182	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
827	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
753	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
242	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Fraise, Cassis</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
015	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
616	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
182	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
827	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
753	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
242	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Figue</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
015	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
616	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
182	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
827	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
753	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
242	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Géranium</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
015	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
616	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
182	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
827	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
753	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
242	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Herbacé</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
015	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
616	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
182	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
827	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
753	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
242	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<u>Foin</u>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
015	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
616	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
182	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
827	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
753	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
242	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

ANNEXE 9 :

BAIES EN ETAT DE SUR-MATURATION (STADE FLETRI)



ANNEXE 10 :

BAIES EN ETAT DE SUR-MATURATION EXTREME (STADE FLETRI SEC)



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abe, S. (1937). *Journal of chemical society of Japan*, 1937, vol.38, pp246.

Acree, T. E., Barnard, J., et Cunningham, D. G. (1984). A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chemistry*, 14(4), 273-286.

Alchihab, M., Destain, J., Aguedo, M., et Thonart, P. (2010). Production of aroma lactones by yeasts. [Production d'arômes de type lactone par des levures] *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 14(4), 681-691.

Aleixandre, J. L., Lizama, V., Alvarez, I. et Garcia, M. J. (2003). Varietal differentiation of red wines in the Valencian region (Spain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(4): 751-755.

An, J. -, et Oh, D. -. (2013). Increased production of γ -lactones from hydroxy fatty acids by whole waltomyces lipofer cells induced with oleic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(18), 8265-8272.

Analyse sensorielle. (2007). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR.

Analyse sensorielle. Appareillage. Verre à dégustation pour l'analyse sensorielle des vins. ISO 3591(1977). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR.

Analyse sensorielle-Directives générales pour la conception de locaux destinés à l'analyse. NF EN ISO 8589 (2010). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR.

Analyse sensorielle-Méthodologie-Essai triangulaire. NF EN ISO 4120 (2007). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR.

Analyse sensorielle-Méthodologie-Lignes directrices générales pour la mesure des seuils de détection d'odeur, de flaveur et de goût par une technique à choix forcé de 1 parmi 3 (3-AFC). ISO 13301 (2002). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR.

Anocibar-Beloqui, A., Kotseridis, Y. et Bertrand A. (1996). Détermination de la teneur en sulfure de diméthyle dans quelques vins rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 30, 167-170.

Appell, L. (1969). Physical foundations in perfumery. VIII. The minimum perceptible. *Am. Perfum. Cosmet.* (84), 45-50.

Augris, A. (1994). Caractérisation sensorielle de l'appellation Morgon. *Revue des œnologues*, 72 : 39-41.

B

Bailly, S. ; Jerkovic, V. ; Meurée, A. ; Tim Mermans, A. et Collin, S. (2009). Fate of key odorants in Sauternes wines through aging. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 57, pp8557-8563.

Ball, D. W. (2007). The chemical composition of maple syrup. *Journal of Chemical Education*, 84(10), 1647-1650.

Ballester, L. (2004). Mise en évidence d'un espace sensoriel et caractérisation des marqueurs relatifs à l'arôme des vins issus du cépage Chardonnay. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne and Universitat Politecnica de Valencia, Dijon.

Ballester, J., Dacremont, C., Le Fur, Y., et Etiévant, P. (2005). The role of olfaction in the elaboration and use of the chardonnay wine concept. *Food Quality and Preference*, 16(4), 351-359.

Bayonove, C., Cordonnier, R. et Dubois, P. (1975). Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme de raisin de variété Cabernet-Sauvignon : mise en evidence de la 2-methyl-3-isobutylpyrazine. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 281, série D, 75-78.

Bayonove, C., Günata, Z. et Cordonnier, R. (1984). Mise en evidence de l'intervention d'enzymes dans le développement de l'arôme des jus de muscat avant fermentation : la production de terpénols. *Bulletin de l'O.I.V.*, 643-644, 741-757.

Bayonove, C., Baumes, R., Crouzet, J. et Günata, Z. (1998). Arômes. *Œnologie : fondements scientifiques et technologiques*. Flanzy, C., Paris, Lavoisier (Eds.) : Tec & Doc ; 163-235.

Beltran, G., Novo, M., Guillamón, J. M., Mas, A., & Rozès, N. (2008). Effect of fermentation temperature and culture media on the yeast lipid composition and wine volatile compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 169-177.

Berger, R.G. (2007). Wine aroma. *Flavour and Fragrances*. pp241-267.

Bernreuther, A., Christoph, N., & Schreier, P. (1989). Determination of the enantiomeric composition of γ -lactones in complex natural matrices using multidimensional capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 481(C), 363-367.

- Bertrand, A. (1983).** Volatiles from grape must fermentation. *Flavour of distilled beverages. Origin and development*. Pigott J.R. Grande Bretagne, Ellis Horwood (Eds.) LDT Chichester, 93-109.
- Blanch, G. P., Reglero, G., Herraiz, M., et Tabera, J. (1991).** A comparison of different extraction methods for the volatile components of grape juice. *Journal of Chromatographic Science*, 29(1), 11-15.
- 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. Thèse de Doctorat, Université Victor Segalen, Bordeaux, France.
- Blank, I.; Sen, A. et Grosch, W. (1992).** Potent odorants of the roasted powder and brew of arabica coffee. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 195, 239–245.
- Blank, I. et Schieberle, P. (1993).** Analysis of the seasoning-like flavour substances of a commercial lovage extract (*Levisticum officinale* Koch.). *Flavour Fragrance Journal*, 8, 191-195.
- Blank, I. ; Fay, L. B. ; Lakner, F.J. et Schlosser, M. (1997).** Détermination of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone and 2(or 5)-ethyl-4-hydroxy-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone in pentose sugar-based maillard model systems by isotope dilution assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 199, vol. 45, pp2642-264.
- Boidron, J.N., Chatonnet, P. et Pons, M. (1988)** Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 275-293.
- Boss, P. K., Davies, C., et Robinson, S. P. (1996).** Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *vitis vinifera* L. cv shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, 111(4), 1059-1066.
- Bouchilloux, P., Darriet, Ph., Henry, R., Lavigne-Cruège, V. et Dubourdieu, D. 1998.** Identification of volatile and powerful odorous thiols in Bordeaux red wines varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3095-3099.
- Botois N (2007)** Test en Saumurois - Touraine du modèle de terrain développé sur levignoble de l'Anjou pour la caractérisation des terroirs. INRA-UVV.
- Bruche, G., Schmarr, H. -, Bauer, A., Mosandl, A., Rapp, A., et Engel, L. (1991).** Stereoisomeric flavour compounds LI: Enantioselective CPG-analysis and origin assignment of chiral furanones: Scope and limitations. [Stereoisomere Aromastoffe - LI: Stereodifferenzierung chiraler Furanone

Möglichkeiten und Grenzen der herkunftsspezifischen Aromastoff-Analyse] *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 193(2), 115-118.

Buettner, A.(2004). Investigation of potent odorants and afterodor development in two Chardonnay wines using the bucal odor screening system (BOSS). *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 52, pp2339-2346.

Buttery, R.G. (1989). Importance of lipid derived volatiles to vegetable and fruit flavor, *Flavor chemistry of lipid foods*, pp156-165.

Buttery, R.G. (1999). Flavor chemistry and odor thresholds, In : R. Teranishi (Ed.), *Flavor chemistry : thirty years of progress*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp353-365.

Buttery, R. G., Takeoka, G. R., Naim, M., Rabinowitch, H., et Nam, Y. (2001). Analysis of furaneol in tomato using dynamic headspace sampling with sodium sulfate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4349-4351.

C

Cadot, Y. (2010). Influence de la date de vendange sur les composés phénoliques de la baie de raisins ; conséquences pour la typicité du vin. Thèse doctorale du Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques Montpellier Supagro.

Canuti, V., Conversano, M., Calzi, M. L., Heymann, H., Matthews, M. A., et Ebeler, S. E. (2009). Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for profiling free volatile compounds in Cabernet-Sauvignon grapes and wines. *Journal of Chromatography A*, 1216(15), 3012-3022.

Casabianca, F., Sylvander, B., Noël, Y., Béranger, C., Coulon, J. B., et Roncin, F. (2005). Terroir et Typicité : deux concepts-clés des Appellations d'Origine Contrôlée - Essai de définitions scientifiques et opérationnelles. In *Proceedings of the Territoires et enjeux du développement régional* (pp 1-18). Lyon

Cerny, C., et Grosch, W. (1992). Evaluation of potent odorants in roasted beef by aroma extract dilution analysis. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 194(4), 322-325.

Chatonnet, P., Boidron, J.N., et Pons, M. (1990). Elevage des vins rouges en fûts de chêne : évolution de certains composés volatils et de leur impact aromatique. *Science des aliments*, 10, 567-587.

- Chatonnet, P. (1995).** Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne. Bordeaux, France : Université Bordeaux II.
- Chatonnet, P., Cutzach, I., Pons, M., et Dubourdieu, D. (1999).** Monitoring toasting intensity of barrels by chromatographic analysis of volatile compounds from toasted oak wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4310-4318.
- Chen, Y. et Sidisky, L. M. (2011).** Quantification of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3-furanone in fruit samples using solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(38), 6817-6822.
- Coelho, E., Rocha, S. M., Delgadillo, I., et Coimbra, M. A. (2006).** Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during vitis vinifera L. cv. 'baga' ripening. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2 SPEC. ISS.), 204-214.
- Collin, S., Nizet, S., Claeys Bouuaert, T., et Despatures, P. (2012).** Main odorants in jura flor-sherry wines. relative contributions of sotolon, abhexon, and theaspirane-derived compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1), 380-387.
- Cooke, R. C., Capone, D. L., Van Leeuwen, K. A., Elsey, G. M., et Seeton, M. A. (2009a).** Quantification of several 4-alkyl substituted γ -lactones in australian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 348-352.
- Cooke, R. C., Van Leeuwen, K. A., Capone, D. L., Gawel, R., Elsey, G. M., et Sefton, M. A. (2009b).** Odor detection thresholds and enantiomeric distributions of several 4-alkyl substituted γ -lactones in australian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2462-2467.
- Cordonnier, R. et Bayonove, C. (1974).** *Compte rendu de l'académie des sciences de Paris*. 278, 387-395.
- Culleré, L., Cacho, J., et Ferreira, V. (2007).** An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876-881.
- Cutzach, I., Chatonnet, P. et Dubourdieu, D. (1998).** Rôle du sotolon dans l'arôme des vins doux naturels, influence des conditions d'élevage et de vieillissement. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 32, 223-233.
- Cutzach, I., Chatonnet, P., et Dubourdieu, D. (1999).** Study of the formation mechanisms of some volatile compounds during the aging of sweet fortified wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7), 2837-2846.

D

- Dacremont, C.**, et Vickers, Z. (1994). Classification of cheeses according to their closeness to the cheddar cheese concept. *Journal of Sensory Studies*, 9, 237-246.
- Dagan, L.**, Schneider, R., Lepoutre, J. P., et Baumes, R. (2006). Stability of sotolon in acidic and basic aqueous solutions: Application to the synthesis of a deuterated analogue for its quantitative determination in wine. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2 SPEC. ISS.), 365-374.
- Darriet, P.** ; Pons, M. ; Henry, R. ; Dumont, O. ; Findeling, V. ; Cartolaro, P. ; Calonnec, A. et Dubourdiou, D., (2002). Impact odorants contributing to the fungus type aroma from grape berries contaminated by powdery mildew (*Uncinula necator*) ; incidence of enzymatic activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol.50, pp3277-3282.
- Darriet, P.**, Gheusi, G., Mouret, A., Ortega-Pérez, I., Vincent, J.D. et Lledo, P.M. (2009). A contribution of olfactory bulb masps to odor mixture perception. *9ème colloque de la Société des Neurosciences*, 042.2.
- Delort, E.**, Jaquier, A., Chapuis, C., Rubin, M., et Starckenmann, C. (2012). Volatile composition of oyster leaf (*mertensia maritima* (L.) gray). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(47), 11681-11690.
- Du, X.**, Finn, C. E., et Qian, M. C. (2010). Volatile composition and odour-activity value of thornless 'black diamond' and 'marion' blackberries. *Food Chemistry*, 119(3), 1127-1134.
- Dubourdiou, D.** (2007). Valeur et typicité des vins de Bordeaux sur le marché mondial. Actes de la 8^{ème} journée technique du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux. Pp27-28.
- Dubois, P.** (1994). Les arômes des vins et leurs défauts. *Revue française d'œnologie*, 145, 27-40.
- Dufossé, L.** ; Latrasse, A., et Spinnler, H.-E. (1994). Importance des lactones dans les arômes alimentaires : structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. *Sciences des aliments*, vol. 14, pp17-50.
- Dupé, A.**, Achard, M., Fischmeister, C., et Bruneau, C. (2012). Methyl ricinoleate as platform chemical for simultaneous production of fine chemicals and polymer precursors. *ChemSusChem*, 5(11), 2249-2254.

E

Engel, K. -, Flath, R. A., Buttery, R. G., Mon, T. R., Ramming, D. W., et Teranishi, R. (1988). Investigation of volatile constituents in nectarines. 1. analytical and sensory characterization of aroma components in some nectarine cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(3), 549-553.

Enzel, C.R. (1985). Biodegradation of carotenoids – an important route to aroma compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 57, 693-700.

Escudero, A., Cacho, J., et Ferreira, V. (2000). Isolation and identification of odorants generated in wine during its oxidation: A gas chromatography-olfactometric study. *European Food Research and Technology*, 211(2), 105-110.

Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., et Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501-4510.

Etiévant, P.X. et Bayonove, C. (1983). Aroma components of pomaces and wine from variety Muscat de frontignan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 34, 393-403.

Etiévant, P.X., (1987). Mise au point sur les techniques d'extraction et de séparation des constituants volatils du vin. *Connaissance vigne vin*, vol. 21, pp247-265.

Etiévant, P.X. (1991). Wine. *Volatils compounds in foods and beverages*. Maarse H. New-York, Dekker (Eds.), 483-533.

F

Falcao, L. D., Lytra, G., Darriet, P., et Barbe, J. -. (2012). Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. *Food Chemistry*, 132(1), 230-236.

Fanet J. (2008) 'Les terroirs du vin.' (Hachette: Paris).

Fang, Y., et Qian, M. C. (2005). Sensitive quantification of sulfur compounds in wine by headspace solid-phase microextraction technique. *Journal of Chromatography A*, 1080(2), 177-185.

Fang, Y., et Qian, M. C. (2006). Quantification of selected aroma-active compounds in pinot noir wines from different grape maturities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8567-8573.

Fang, Y.; Meng, J.; Zhang, A.; Liu, J.; Xu, T.; Yu, W.; Chen, S.; Li, H.; Zhang, Z. et Wang, H. (2011), Influence of shriveling on berry composition and antioxidant activity of Cabernet-Sauvignon grapes from Shanxi vineyards. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 749-757.

Fang, F., Tang, K., et Huang, W. -. (2013). Changes of flavonol synthase and flavonol contents during grape berry development. *European Food Research and Technology*, 237(4), 529-540.

Fariña, L., Carrau, F., Boido, E., Disegna, E., et Dellacassa, E. (2010). Carotenoid profile evolution in vitis vinifera cv. tannat grapes during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(4), 451-456.

Ferreira, B., Hory, C., Bard, M. H., Taisant, C., Olsson, A., et Le Fur, Y. (1995). Effects of skin contact and settling on the level of the C18:2, C18:3 fatty acids and C6 compounds in burgundy chardonnay musts and wines. *Food Quality and Preference*, 6(1), 35-41.

Ferreira, V., López, R., et Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659-1667.

Ferreira, V. ; Ortin, N. ; Escudero, A. ; Lopez, R., et Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines : aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of agricultural and food chemistry*,_vol.50, pp4048-4054.

Ferreira, V. ; Jarauta, I. ; López, R. et Cacho, J. (2003). Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extraction and gas chromatography–ion-trap mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1010, pp 95-103.

Ferreira, V., Jarauta, I., Ortega, L., et Cacho, J. (2004). Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients: Application to the determination of aliphatic lactones in wine. *Journal of Chromatography A*, 1025(2), 147-156.

G

Galet, P. (1993). L'ampélographie française. *Cépages et vignobles de France*, vol. 2.

Garbe, L. A.; Landrock, D.; Hübke, H. et Tressl, R. (2005). In *γ-nonalactone enantiomers in beer : biosynthesis from 9- and 13-hydroxyoctadecadienoic acids in yeast*, 30th European brewery convention, Prague.

- Garcia, C. V.,** Quek, S. -, Stevenson, R. J., et Winz, R. A. (2011). Characterization of the bound volatile extract from baby kiwi (*actinidia arguta*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15), 8358-8365.
- Gemmert, V. (2003).** Compilation of Odor Thresholds, Boelens Aroma Chemical Information Service (BACIS), Zeist, The Netherlands.
- Genovese, A.,** Piombino, P., Lisanti, M. T., et Moio, L. (2005). Determination of furaneol (4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone) in some wines from italian native grapes by gas-chromatography-sim/mass spectrometry. *Annali Di Chimica*, 95(6), 415-419.
- Gény, L. et** Dubourdieu, D. (2009). Le millésime 2009 à Bordeaux.
- Gény, L. et** Dubourdieu, D. (2010). Le millésime 2010 à Bordeaux.
- Gény, L. et** Dubourdieu, D. (2012). Le millésime 2012 à Bordeaux.
- Gény, L. et** Dubourdieu, D. (2014). Le millésime 2014 à Bordeaux.
- Giraud, G. (2005).** What is typicality? A marketing and consumer approach. In *Typical Food products in Europe: consumer preference and objective assessment*. Clermont-Ferrand, France.
- Goldner, M. C. et** Zamora, M. C. (2007). Sensory characterization of *Vitis Vinifera* cv. Malbec wines from seven viticulture regions of Argentina. *Journal of Sensory Studies*, 22, 520-532.
- Gómez-Míguez, M. J.,** Cacho, J. F., Ferreira, V., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Volatile components of zalema white wines. *Food Chemistry*, 100(4), 1464-1473.
- Greger, V. et** Schieberle, P. (2007). Characterization of the key aroma compounds in apricots (*Prunus armeniaca*) by application of the molecular sensory science concept. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol.55, pp5221-5228.
- Greger, V., et** Schieberle, P. (2007). Characterization of the key aroma compounds in apricots (*prunus armeniaca*) by application of the molecular sensory science concept. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5221-5228.
- Grosch, W.;** Konopka, U. C. et Guth, H. (1992). Characterization of off-flavors by aroma extract dilution analysis. In *Lipid Oxidation in Food*; Angelo, A. J. St., Ed.; American Chemical Society, Washington, DC ; pp 266-278.

- Grosch, W. (1994).** Determination of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). *Flavour fragrance Journal*. vol. 9, pp147-158.
- Guadagni, D., Okano, S., Buttery, G. et Burr, H. (1966).** Correlation of sensory and gas-liquid chromatographic measurement of apple volatiles. *Food Technology*: 166-169.
- Guedes de Pinho, P. et Bertrand, A. (1995).** Analytical determination of furaneol (2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone). Application of differentiation of white wines from hybrid and various *Vitis vinifera* cultivars. *American journal of enology and viticulture*, vol. 46, No 2.
- Guichard, E., Pham, T.T. et Charpentier, C. (1997).** Le sotolon, marqueur de la typicité des vins du jura. *Revue des œnologues*, 82, 32-34.
- Guillén, M. D., et Manzanos, M. J. (2002).** Study of the volatile composition of an aqueous oak smoke preparation. *Food Chemistry*, 79(3), 283-292.
- Günata, Y.Z., Bayonove, C.L., Baumes, T.I. et Cordonnier, C. (1985).** The aroma of grapes. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma compounds. *Journal of Chromatography A*. 331, 83-90.
- Gürbüz, O., Rouseff, J. M., et Rouseff, R. L. (2006).** Comparison of aroma volatiles in commercial merlot and Cabernet-Sauvignon wines using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 3990-3996.
- Guth, H. et Grosch, W. (1989)** 3-Methylnonane-2,4-dione an intense odour compound formed during flavour reversion of soya-beanoil. *Fat Sci. Technol.*1989,91, 225-230.
- Guth, H. et Grosch, W. (1990).** Comparison of stored soya-bean and rapeseed oils by aroma extract dilution analysis. *Lebensm.-Wiss. Technol.*990,23.
- Guth, H. et Grosch, W. (1991)** Detection of Furanoid Fatty Acids in Soya-Bean Oil – Cause for the Light-Induced Off-Flavour. *Lipid Fett* 93, 249–255.
- Guth, H., et Grosch, W. (1993).** 12-methyltridecanal, a species-specific odorant of stewed beef. *LWT - Food Science and Technology*, 26(2), 171-177.
- Guth, H. et Grosch, W. (1994).** Identification of the character impact compounds odorants of stewed beef juice by instrumental analyses and sensory studies, *Journal of agricultural and food chemistry*, 1994, vol.42, pp2862-2866.

Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027-3032.

Guth, H. (1997). Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3022-3026.

Guth, H. et Grosch, W. (1999) Impact of 3-methylnonane-2,4-dione on the flavor of oxidized soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 145.

H

Haleva-Toledo, E. ; Naim, M. ; Zehavi, U. et Roussef, R.L. (1997). 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone formation in buffers and model solutions of citrus juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1997, vol.45, pp1314-1319.

Hammer, M., et Schieberle, P. (2013). Model studies on the key aroma compounds formed by an oxidative degradation of ω -3 fatty acids initiated by either copper(II) ions or lipoxygenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10891-10900.

Harper, R. (1982). Techniques of analysis of flavours. Sensory methods. Food flavours. Part A. Amsterdam, New York, Oxford : Elsevier.

Harrison, A. G. (1992). *Chemical Ionization Mass Spectroscopy* CRC Press: Boca Raton.

Herrero, M., Ibáñez, E., Cifuentes, A., et Bernal, J. (2009). Multidimensional chromatography in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7110-7129.

Ho, P., Hogg, T. A., et Silva, M. C. M. (1999). Application of a liquid chromatographic method for the determination of phenolic compounds and furans in fortified wines. *Food Chemistry*, 64(1), 115-122.

J

Jackson, R.S. (2009). Wine tasting: A professional handbook (2nd ed.). Food Science and technology, International series, San Diego.

Jarauta, I., Ferreira, V., et Cacho, J. F. (2006). Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Developments of Food Science*, (43)C, 205- 208.

Jezussek, M., Juliano, B. O., et Schieberle, P. (2002). Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1101-1105.

K

Kalua, C. M., et Boss, P. K. (2009). Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet-Sauvignon grapes (*vitis vinifera* l.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3818-3830.

Kao, J.-W., Wu, X., Hammond, E. G. et White, P. J. (1998) The impact of furanoid fatty acids and 3-methylnonane-2,4-dione on the flavor of oxidized soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 831–835.

Kirchhoff, E., et Schieberle, P. (2002). Quantitation of odor-active compounds in rye flour and rye sourdough using stable isotope dilution assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19), 5378-5385.

Klesk, K. et Qian, M. (2003). Aroma extract dilution analysis of Cv. Marion (*Rubus* spp. *Hyb*) and Cv. Evergreen (*R. laciniatus* L.) blackberries. *Journal of agricultural and food chemistry*,_vol. 51, pp 3436-3441.

Kotseridis, Y., Baumes, R., et Skouroumounis, G. K. (1998). Synthesis of labelled [2H4]β-damascenone, [2H2]2-methoxy-3- isobutylpyrazine, [2H3]α-ionone, and [2H3]β-ionone, for quantification in grapes, juices and wines..*Journal of Chromatography A*, 824(1), 71-78.

Kotseridis, Y. (1999). Etude de l'arôme des vins de Merlot et Cabernet-Sauvignon de la région bordelaise. Thèse de Doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2.

Kotseridis, Y. ; Razungles, A. ; Bertrand, A. et Baumes, R. (2000). Differentiation of the aromas of merlot and Cabernet-Sauvignon wines using sensory and instrumental analysis, *Journal of agricultural and food chemistry*,_2000, vol. 48, pp 5383-5388.

Kovats, E. (1958). Gas chromatographische charakterisierung organischer Verbindungen.I. Retentions indices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. *Helvetica Chimica Acta*, vol. 41, pp1915-1932.

Krasnow, M.; Weis, N.; Smith, R. J.; Benz, M. J.; Matthews, M. et Shackel, K. (2009), Inception, progression, and compositional consequences of a berry shrivel disorder. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60, 24-34.

Kumazawa, K., et Masuda, H. (1999). Identification of potent odorants in Japanese green tea (sencha). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5169-5172.

L

Landy, P., Boucon, C., Kooyman, G. M., Musters, P. A. D., Rosing, E. A. E., De Joode, T. et Haring, P. G. M. (2002). Sensory and chemical changes in tomato sauces during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3262-3271.

López, R., Ferreira, V., Hernández, P., et Cacho, J. F. (1999). Identification of impact odorants of young red wines made with merlot, Cabernet-Sauvignon and grenache grape varieties: A comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(11), 1461-1467.

López, R., Aznar, M., Cacho, J., et Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1-2), 167-177.

López, R., Lapeña, A. C., Cacho, J., et Ferreira, V. (2007). Quantitative determination of wine highly volatile sulfur compounds by using automated headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-pulsed flame photometric detection. critical study and optimization of a new procedure. *Journal of Chromatography A*, 1143(1-2), 8-15

Lupe, F.A. ; Lemes, A.C., Augusto, F. et Barata, L.E.S., (2007). Fragrant lactones in the steam distillation residue of *Aeollanthus suaveolens* Mart. Ex Spreng and analysis by HS-SPME. *Journal of essential oil research*. 007, vol.19 ; pp271-272.

Lytra, G. (2012). Importance des interactions perceptives dans l'expression de l'arôme fruité typique des vins rouges. Thèse doctorale de l'université de Bordeaux 2.

M

MacFie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K. et Vallis, L. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of sensory studies*. 4 : 129-148.

Maga, J. A. (1976). Lactones in foods. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8(1), 1-56.

- Marullo, P. ; Bely, M. ; Masneuf-Pomarède, I. ; Pons, M. ; Aigle, M. et Dubourdiou, D. (2005).** Breeding strategies for combining fermentative qualities and reducing off-flavor production in a wine yeast model. *Federation of European Microbiological Societies*, pp268-279.
- Martin, N., et De Revel, G. (1999).** Évaluation sensorielle: Bases scientifiques et applications œnologiques. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 33(SPEC. ISS.), 85-98.
- Masanetz, C., Guth, H., et Grosch, W. (1998).** Fishy and hay-like off-flavours of dry spinach. *European Food Research and Technology*, 206(2), 108-113.
- Masanetz, C., et Grosch, W. (1998).** Hay-like off-flavour of dry parsley. *Zeitschrift Fur Lebensmittel - Untersuchung Und -Forschung*, 206(2), 114-120.
- Mayer, F. ; Takeoka, G. ; Buttery, R. ; Naim, M. ; Bezman, Y. et Rabinowitch, H. (2002).** Aroma fresh field tomatoes, *ACS Symposium Series*,_vol. 836, pp144-161.
- Mayr, C. M., Capone, D. L., Pardon, K. H., Black, C. A., Pomeroy, D., et Francis, I. L. (2015).** Quantitative analysis by GC-MS/MS of 18 aroma compounds related to oxidative off-flavor in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(13), 3394-3401.
- Mendes-Pinto, M. M. (2009).** Carotenoid breakdown products the-norisoprenoids-in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 483(2), 236-245.
- Miklosy, E. ; Kalmar, Z. et Kerenyi, Z. (2004).** Identification of some characteristic aroma compounds in noble rotted grape berries and Aszu wines from Tokaj by GC-MS. *Acta Alimentaria*, vol.33, pp-215-226.
- Milo, C. et Grosch W. (1997).** Potent odorants in boiled cod as affected by storage of raw material, *Flavor and lipid chemistry of seafoods*,_1997, pp110-119.
- Mira de Orduña, R. (2010).** Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7), 1844-1855.
- Moio, L., Schlich, P., Issanchou, S., Etiévant, P. X. et Feuillat, M.(1993).**Description de la typicité aromatique de vins de Bourgogne issus du cépage Chardonnay. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 27: 179-189.
- Moreno, J. J., Cerpa-Calderón, F., Cohen, S. D., Fang, Y., Qian, M., et Kennedy, J. A. (2008).** Effect of postharvest dehydration on the composition of pinot noir grapes (*vitis vinifera* L.) and wine. *Food Chemistry*, 109(4), 755-762.

Mosandl, A., et Günther, C. (1989). Stereoisomeric flavor compounds. 20. structure and properties of γ -lactone enantiomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(2), 413-418.

Mosandl, A. (1992). Capillary gas chromatography in quality assessment of flavours and fragrances. *Journal of Chromatography A*, 624(1-2), 267-292.

N

Naef, R., Jaquier, A., Velluz, A., et Maurer, B. (2006). New constituents related to 3-methyl-2,4-nonanedione identified in green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24), 9201-9205.

Näf, R., et Jaquier, A. (2006). New lactones in liquorice (*glycyrrhiza glabra* L.)#. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2), 193-197.

Nakanishi, A., Miyazawa, N., Haraguchi, K., Watanabe, H., Kurobayashi, Y., et Nammoku, T. (2014). Determination of the absolute configuration of a novel odour-active lactone, cis-3-methyl-4-decanolide, in wasabi (*wasabia japonica* matsum.). *Flavour and Fragrance Journal*, 29(4), 220-227.

Nitz, S., Kollmannsberger, H., Weinreich, B., et Drawert, F. (1991). Enantiomeric distribution and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio determination of γ -lactones: Appropriate methods for the differentiation between natural and non-natural flavours? *Journal of Chromatography A*, 557(C), 187-197.

Norman F. Haard et Benjamin K. Simpson (2000). Seafood Enzymes: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality.

O

Ohloff, G. (1969). Chemistry of odoriferous and flavoring substances. *Fortschr. Chem. Forsch.*

Ortega-Heras, M., González-SanJosé, M. L., et Beltrán, S. (2002). Aroma composition of wine studied by different extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 85-93.

Ortega-Heras, M., González-Huerta, C., Herrera, P., et González-Sanjosé, M. L. (2004). Changes in wine volatile compounds of varietal wines during ageing in wood barrels. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 341-350.

Ong, P. K. C., et Acree, T. E. (1999). Similarities in the aroma chemistry of gewurztraminer variety wines and lychee (litchi chinesis sonn.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 665-670.

P

Paloc, J., Torres, P., Seguin, A., Pages, J., Bayonove, C. et Baumes, R.(1993). Caractéristiques aromatiques des cépages Muscats à petits grains et Muscats d'Alexandrie dans les V.D.N. Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins. Actes du symposium International. Ed: Revue Française d'œnologie : 40-46.

Parker, M., Pollnitz, A. P., Cozzolino, D., Francis, I. L., et Herderich, M. J. (2007). Identification and quantification of a marker compound for 'pepper' aroma and flavor in shiraz grape berries by combination of chemometrics and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 5948-5955.

Pawliszyn, J. B., et Alexandrou, N. (1989). Indirect supercritical fluid extraction of organics from water matrix samples. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 24(2), 207-214.

Peynaud, E. et Blouin, J. (2006). Le goût du vin. Le grand livre de la dégustation. Paris, Editions Dunod.

Peyrot des Gachons, C., Tominaga, T., et Dubourdieu, D. 2002. 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (14), 4076-4079.

Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., et Marchand, S. (2015). A sensory study of the ageing bouquet of red bordeaux wines: A three-step approach for exploring a complex olfactory concept. *Food Quality and Preference*, 42, 110-122.

Pineau, B. (2007). Contribution à l'étude de l'arôme fruité spécifique des vins rouges de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot noir et Cabernet-Sauvignon. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.

Pineau, B., Barbe, J. -, Van Leeuwen, C., et Dubourdieu, D. (2007). Which impact for β -damascenone on red wines aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4103-4108

Pollien, P., Fay, L. B., Baumgartner, M., et Chaintreau, A. (1999). First attempt of odorant quantitation using gas chromatography-olfactometry. *Analytical Chemistry*, 71(23), 5391-5397.

Pons, A. (2006). Recherches sur l'arôme de vieillissement premature des vins. Thèse doctorale de l'université de Bordeaux II.

Pons, A., Lavigne, V., Landais, Y., Darriet, P., et Dubourdieu, D. (2008a). Distribution and organoleptic impact of sotolon enantiomers in dry white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(5), 1606-1610.

Pons, A., Lavigne, V., Eric, F., Darriet, P., et Dubourdieu, D. (2008b). Identification of volatile compounds responsible for prune aroma in prematurely aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5285-5290.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., et Dubourdieu, D. (2011a). Determination of 3-methyl-2,4-nonanedione in red wines using methanol chemical ionization ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(39), 7023-7030.

Pons, A. ; Lavigne, V. ; Darriet, P. et Dubourdieu, D. (2011b). Identification et impact organoleptique de la massoia lactone dans les moûts et les vins rouges. 9^{ème} *Symposium d'Oenologie*, Dunod, Ed. Bordeaux.

Pons, A.; Lavigne, V.; Darriet, P. et Dubourdieu, D. (2011c). The Premature aging of red wines : from FFA to 3-methyl-2,4-nonanedione. 9^{ème} *Symposium d'Oenologie*, Dunod, Ed. Bordeaux.

Pons, A. (2013). Incidence de la date de récolte sur l'aptitude au vieillissement des vins rouges de Bordeaux. *Conférence Fruition Science*, Bordeaux.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., et Dubourdieu, D. (2013). Role of 3-methyl-2,4-nonanedione in the flavor of aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(30), 7373-7380.

Preininger, M., et Grosch, W. (1994). Evaluation of key odorants of the neutral volatiles of emmentaler cheese by the calculation of odour activity values. *LWT - Food Science and Technology*, 27(3), 237-244.

R

Rapp, A. ; Knipser, W. ; Engel, L. ; Ullemeyer, H. et Heimann, W. (1980). Off-flavour compounds in the berry aroma of grapevine hybrids I. The strawberry-like flavour. *Vitis*, vol.30, pp12-23.

- Rapp, A. (1998).** Volatile flavor of wine : correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung-Food*. 42:351-363.
- Reiners, J. et Grosch, W. (1998).** Odorants of virgin olive oils with different flavor profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2754–2763.
- Ribéreau-Gayon, J. et Peynaud E. (1964).** Traité d'oenologie. Librairie polytechnique Ch. Béranger. Tome 1 et 2.
- Ribéreau-Gayon, P., Lafon-Lafourcade, S. et Bertrand, A. (1975).** Le débourage des moûts de vendange blanche. *Connaissance de la vigne et du vin*, Elsevier (EDS.), 1-21.
- Ribéreau-Gayon, P. (1978).** Wine flavor. *Flavor in Foods and Beverages*. G. Charalambous and G.E. Inglett (Eds.) Academic Press, London and New York.
- Ribéreau-Gayon, P. ; Glories, Y. ; Maujean, A. et Dubourdieu, D. (2004).** Traité d'œnologie. Paris : Dunod, 2004, vol 1 et vol 2.
- Rodin, J.O. ; Himel, R.M. ; Silverstein R. M., Leeper, R.W. et Bgotner, W.A. (1965).** Volatile flavor and aroma components of pineapple. I. Isolation and tentative indentification of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone. *Journal of food science*, _vol.30, pp-280-285.
- Rosch, E. et Mervis, CB. (1975).** Family resemblances - studies in internal structure of categories. *Cognitive Psychology*, 573-605.
- Roscher, R., Herderich, M., Steffen, J. -, Schreier, P., et Schwab, W. (1996).** 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3 [2H]-furanone 6'O-malonyl-β-D-glucopyranoside in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 43(1), 155-159.
- Rothe, M. et Thomas, B. (1963).** Aroma of bread. Evaluation of chemical taste analyses with the aid of threshold value. *Z Lebensmittel Untersuchung und Forschung* 119: 302-310.
- Roubelakis-Angelakis, K. A. (2009).** *Grapevine molecular physiology and biotechnology: Second edition*
- Roujou de Boubée, D., Van Leeuwen, C., et Dubourdieu, D. (2000).** Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red bordeaux and loire wines. effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830-4834.

Roujou de Boubée, D. (2000). *Recherches sur la 2-methoxy-3-isobutylpyrazine dans les raisins et les vins.* Approches analytique, biologique et agronomique. Thèse doctorale de l'université de Bordeaux 2.

Ryan, D., Watkins, P., Smith, J., Allen, M., et Marriott, P. (2005). Analysis of methoxypyrazines in wine using headspace solid phase microextraction with isotope dilution and comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Separation Science*, 28(9-10), 1075-1082.

Ryona, I., Pan, B. S., Intrigliolo, D. S., Lakso, A. N., et Sacks, G. L. (2008). Effects of cluster light exposure on 3-isobutyl-2-methoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wine grapes (*vitis vinifera* L. cv. cabernet franc). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10838-10846.

S

Salette, J.(1997). La typicité : une notion nouvelle au service du produit, de ceux qui l'élaborent, et de ceux qui le consomment en l'appréciant. *Revue des Œnologues*. 85, 12-13.

Samejo, M.Q. ; Memon, S. ; Bhangar, M.I. et Khan, K.M. (2013). Essential oil constituents in fruit and stem of *Calligonum polygoides*, *Industrial crops and products*. Pp293-295.

San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., et Escudero, A. (2011). Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7916-7924.

Sanz, C., Czerny, M., Cid, C., et Schieberle, P. (2002). Comparison of potent odorants in a filtered coffee brew and in an instant coffee beverage by aroma extract dilution analysis (AEDA). *European Food Research and Technology*, 214(4), 299-302.

Sarrazin, E. (2007). Recherches sur l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble issus des cépages Sémillon et Sauvignon Blanc. Thèse doctorale de l'université de Bordeaux II.

Sarrazin, E ; Dubourdieu, D. et Darriet, P. (2007). Characterization of key-aroma of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, vol.103, pp536-545.

Sauvageot, F.(1994). Les sciences de l'aliment et le concept de typicité ou le chercheur en sciences de la nature a-t-il quelque chose à déclarer sur la typicité d'un produit alimentaire. *Science des Aliments*. 14: 557-571

Schreier, P., Drawert, F. et Junker, A. (1976). Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of agricultural and food chemistry*. 24, 331-355.

- Schreier, P. (1979).** Flavor composition of wines – review. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 12:59-111.
- Schieberle, P. (1992).** Formation of furaneol in heat-processed foods. In *Flavor Precursors Thermal and Enzymatic Conversions; ACS Symposium Series 490*; American Chemical Society: Washington, DC ; pp 164-175.
- Schüttler, A. (2012).** Influencing factors on aromatic typicality of wines from *Vitis vinifera* L. cv. Riesling-sensory, chemical and viticultural insights. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux Segalen.
- Sefton, M. A., Skouroumounis, G. K., Elsey, G. M., et Taylor, D. K. (2011).** Occurrence, sensory impact, formation, and fate of damascenone in grapes, wines, and other foods and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 9717-9746.
- Semmelroch, P. et Grosch, W. (1996).** Studies on character impact odorants of coffee brews, *Journal of agricultural and food chemistry*, 1996, vol.44, pp537-543.
- Shivashankara, K. S.; Laxman, R. H.; Geetha, G. A.; Roy, T. K.; Srinivasa Rao, N. K. et Patil, V. S. (2013),** Volatile Aroma and Antioxidant Quality of 'Shiraz' Grapes at Different Stages of Ripening. *International Journal of Fruit Science*, 13, 389-399.
- Sgrist, I. A., Manzardo, G. G. G., et Amadò, R. (2002).** Furan fatty acid photooxidative degradation products in dried herbs and vegetables. *Chimia*, 56(6), 263-265.
- Silva Ferreira, A. C., Hogg, T., et Guedes De Pinho, P. (2003).** Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1377-1381.
- Silvia Ferreira, A. C., Barbe, J. -, et Bertrand, A. (2003).** 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone: A key odorant of the typical aroma of oxidative aged port wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4356-4363.
- Simpson, R. F. et Miller, G. C. (1984).** Aroma composition of Chardonnay wine. *Vitis*. 23: 143-158.
- Stamatopoulos, P., Frérot, E., Tempère, S., Pons, A., et Darriet, P. (2014).** Identification of a new lactone contributing to overripe orange aroma in bordeaux dessert wines via perceptual interaction phenomena. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(12), 2469-2478.
- Strauss, CR., Wilson, B., Gooley, PR. et William, PJ. (1986).** Role of monoterpenes in grape and wine flavor. *ACS Symposium Series*, 317 :222-242.

Stritzke, K., Schulz, S., Laatsch, H., Helmke, E. et Beil, W. (2004). Novel caprolactones from a marine streptomycete. *Journal of Natural Products*, 67(3), 395-401.

Sulser, H., Depizzol, J. et Büchi, W. (1967). A probable flavoring principle in vegetable-protein hydrolysates. *Journal of Food Science*. 32, 611-615.

Swoboda, P.A.T. et Peers, K.E. (1977). Metallic odor caused by vinyl ketones formed in the oxydation of butterfat. The identification of octa-1,cis-5-dien-3-one, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.28, pp1019-1024.

T

Taillandier, P. et Bonnet, J. (2005). Le vin. *Composition et transformation chimique*. Londres-Paris-NewYork, Lavoisier (Eds.) ; Tec&Doc ; 133-149.

Traversac, J. B., Rousset, S., et Perrier-Cornet, P. (2005). La construction de la qualité et de la réputation en viticulture AOC : un essai d'analyse de processus individuels et collectifs particuliers. *Proceedings of the Produits agricoles et alimentaires d'origine : enjeux et acquis scientifique*. Colloque International de restitution des travaux de recherche sur les Indications et Appellations d'Origine Géographiques, Paris: INRA/INAO.

Tressl, R., Friese, L., Fendesack, F., et Köppler, H. (1978). Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of hop aroma constituents in beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(6), 1422-1426.

Tressl, R.; Bahri, D. et Engel, K. H. (1982). Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 89-93.

Triqui, R., et Reineccius, G. A. (1995). Changes in flavor profiles with ripening of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1883-1889.

Tominaga, T., Des Gachons, C. P., et Dubourdieu, D. (1998). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5215-5219.

Tominaga, T., Furrer, A., Henry, R., et Dubourdieu, D. (1998). Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. sauvignon blanc wines. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(3), 159-162.

Tominaga, T., Blanchard, L., Darriet, P., et Dubourdieu, D. (2000). A powerful aromatic volatile thiol, 2-furanmethanethiol, exhibiting roast coffee aroma in wines made from several vitis vinifera grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1799-1802.

Tominaga, T., Guimbertau, G., et Dubourdieu, D. (2003a). Contribution of benzenemethanethiol to smoky aroma of certain vitis vinifera L. wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1373-1376.

Tominaga, T., Guimbertau, G., et Dubourdieu, D. (2003b). Role of certain volatile thiols in the bouquet of aged champagne wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 1016-1020.

Tonsbeek, C. H. T., Plancken, A. J., et Weerdhof, T. V. D. (1968). Components contributing to beef flavor: Isolation of 4-hydroxy-5-methyl-3(2ff)-furanone and its 2,5-dimethyl homolog from beef broth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 1016-1021.

U

Ubeda, C. ; San-Juan, F. ; Concejero, B. ; Callejon, R.M. ; Troncoso, A.M. ; MORALES, M.L. ; Ferreira, V. et Hernandez-Orte, P. (2012). Glycosidically bound aroma compounds and impact odorants of four strawberry varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*. vol 60. Pp6095-6102.

Ullrich, F. et Grosch, W. (1987). Identification of most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* vol 184., pp277-282.

V

Vallarino, J. G., Gainza-Cortés, F., Verdugo-Alegría, C., González, E., et Moreno, Y. M. (2014). Abiotic stresses differentially affect the expression of O-methyltransferase genes related to methoxypyrazine biosynthesis in seeded and parthenocarpic fruits of vitis vinifera (L.). *Food Chemistry*, 154, 117-126.

Van Leeuwen, K. (2010). Etude des terroirs viticoles par une approche systémique, HDR.

Vaquero-Fernández, L., Sanz-Asensio, J., Fernández-Zurbano, P., Sainz-Ramírez, M., López-Alonso, M., Epifanio-Fernández, S., et Martínez-Soria, M. (2009). Development of a liquid-liquid extraction method for the determination of pyrimethanil, metalaxyl, dichlofluanid and penconazol during the fermentative process of must by GC-NPD. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(5), 750-757.

Vas, G., Gál, L., Harangi, J., Dobó, A., et Vékey, K. (1998a). Determination of volatile aroma compounds of bläufrankisch wines extracted by solid-phase microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, 36(10), 505-510.

Vas, G., Kőteleky, K., Farkas, M., Dobó, A., et Vékey, K. (1998b). Fast screening method for wine headspace compounds using solid-phase microextraction (SPME) and capillary GC technique. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(1), 100-104.

Vilanova, M., et Soto, B. (2005). The impact of geographic origin on sensory properties of Vitis Vinifera cv.Mencia. *Journal of Sensory Studies*, 20, 503-511.

W

Wang, Y., et Ho, C. -. (2008). Formation of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone through methylglyoxal: A maillard reaction intermediate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7405-7409.

Wilson, P.W. ; Shaw, P.E. et Knight, R.H. (1990). Importance of some lactones and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone to mango aroma, *Journal of agricultural and food chemistry*, 1990, vol.38, pp1556-1559.

Winterhalter, P., et Schreier, P. (1994). C13-norisoprenoid glycosides in plant tissues: An overview on their occurrence, composition and role as flavour precursors. *Flavour and Fragrance Journal*, 9(6), 281-287.

Whitfield, F.B. ; Freeman, D.J. ; Last, J.H. ; Bannister, P.A. et Kennett, B.H. (1982). Oct-1-en-3-ol and (5Z)-octa-1,5-dien-3-ol, compounds important in the flavour of prawns and sand-lobsters, *Australian Journal of Chemistry*, vol.35, 373-383.

Wood, C., Siebert, TE., Parker, M., Capone, DL., Elsey, GM., Pollnitz, AP., Eggers, M., Meier, M., Vossing, T., Widder, S., Krammer, G., Sefton, MA. et Herderich, MJ. (2008). From wine to pepper : Rotundone an obscure sesquiterpene is a potent spicy aroma compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56:3738-3744.

Z

Zehentbauer, G. et Reineccius, G.A. (2002). Determination of key aroma components of cheddar cheese using dynamic headspace dilution assay. *Flavour and Fragrance journal*, Vol.17, pp300-305.

Recherches sur les marqueurs moléculaires de l'arôme de « fruits cuits » des raisins et des vins rouges issus des cépages Merlot et Cabernet-Sauvignon

Depuis les années 2000, les odeurs de fruits cuits, évoquant le pruneau, la figue, ou encore la pêche cuite sont de plus en plus fréquemment retrouvées dans les vins rouges de la région bordelaise. Les marqueurs responsables de ces nuances associés à l'état de maturité des raisins sont inconnus.

Dans un premier temps, nous montrons que ces nuances, qui étaient jadis très rarement rencontrées dans les vins d'une appellation que nous avons appelée A, figurent aujourd'hui parmi les arômes considérés comme typiques de ces vins. Cependant, les dégustateurs qui assimilent ce caractère au type de cette appellation tendent à confondre l'arôme de fruits cuits du vin jeune à celui du caractère oxydé des vins prématurément vieillis.

Les analyses par CPG-O, CPG-SM et CPG-CPG-SM de moûts et de vins marqués par des nuances de fruits cuits ont permis de valider l'existence de zones odorantes rappelant l'odeur de ces échantillons. L'analyse par GC-MS de nombreux échantillons de moût et de vin montrent que le furanéol (caramel), la γ -nonalactone (coco, pêche cuite), la (Z)-1,5-octadien-3-one (géranium) contribuent à cet arôme. Nous révélons également l'existence d'un composé à odeur de fruits cuits, de type lactone et non identifié à ce jour. L'impact de la (Z)-1,5-octadien-3-one est clarifiée pour la première fois dans les moûts. Nous précisons également l'incidence de la date de récolte des raisins de Merlot et Cabernet-Sauvignon sur l'arôme et la composition fine des moûts et des vins. La vinification de raisins récoltés tardivement voire flétris produit des vins marqués par des nuances de fruits cuits accompagnées de teneurs élevées en furaneol et γ -nonalactone.

Mots clés : Arômes, Raisins, Maturité, Vins

Study of « dried fruits » aromas molecular markers in Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes and red wine

In the 2000s, aromas of dried fruits, referring to prune, fig or cooked peach are found more and more often in Bordeaux red wines. The markers responsible for these aromas related to the grape maturity are unknown.

Firstly, we show that these shades, which were rarely encountered in wines from an appellation named A in this study, are now part of the distinctive aromas of these wines. However, the tasters that assimilate these characteristics to the distinctive aromas and the type of the appellation tend to get mistaken between the cooked fruit aromas from young wines and the ones from the oxidized character of prematurely aged wines.

The GC-O, GC-MS and GC-GC-MS analysis of musts and wines, that had shades of cooked fruits aromas, allowed to confirm the realness of a scented area reminding of the scent of the samples. The analysis by GC-MS of number of must and wine samples show that the furaneol (caramel), the γ -nonalactone (coconut, cooked peach), the (Z)-1,5-octadien-3-one (geranium) take part in this aroma. We also reveal the presence of a lactone type compound having a cooked fruit aroma, but not identified so far. The influence of the (Z)-1,5-octadien-3-one has been identified for the first time in musts. The influence of the harvest date of Merlot and Cabernet-Sauvignon grapes on the aromas and fine composition of musts and wines is also specified. Winemaking processing of grapes that have been late harvested, even with a withered appearance produces wines with shades of cooked fruits aromas and high content of furaneol and γ -nonalactone.

Keywords : Aromas, Grapes, Maturation, Wines