



**Contribution à la connaissance aromatique des vins  
rouges : Approche sensorielle et moléculaire des nuances  
“ végétales, vertes ” en lien avec leur origine**

Xavier Poitou

► **To cite this version:**

Xavier Poitou. Contribution à la connaissance aromatique des vins rouges : Approche sensorielle et moléculaire des nuances “ végétales, vertes ” en lien avec leur origine. Biochimie, Biologie Moléculaire. Université de Bordeaux, 2016. Français. NNT : 2016BORD0407 . tel-01583025

**HAL Id: tel-01583025**

**<https://theses.hal.science/tel-01583025>**

Submitted on 6 Sep 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE  
POUR OBTENIR LE GRADE DE  
**DOCTEUR DE  
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCE DE LA VIE ET DE LA SANTE

Spécialité : ŒNOLOGIE

Par Xavier POITOU

*Né le 19 Avril 1987 à Barbezieux-Saint-Hilaire (16)*

**CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE AROMATIQUE DES VINS ROUGES :  
APPROCHE SENSORIELLE ET MOLECULAIRE DES NUANCES « VEGETALES,  
VERTES » EN LIEN AVEC LEUR ORIGINE**

Sous la direction de : Pr. Philippe DARRIET

Soutenue le 12 Décembre 2016

Membres du jury :

M. VAN LEEUWEN, Kees  
Mme ESCUDERO, Ana  
M. RIESEN, Roland  
M. THOMAS-DANGUIN, Thierry  
M. DARRIET, Philippe

Professeur, Bordeaux Science Agro, ISVV, France  
Professeur, Université de Saragosse, Espagne  
Professeur, Doyen Ecole de Changins, Suisse  
Chargé de Recherche INRA, CSGA, France  
Professeur, Université de Bordeaux, France

Président  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Directeur de thèse

## Contribution à la connaissance aromatique des vins rouges :

### *Approche sensorielle et moléculaire des nuances « végétales, vertes » en lien avec leur origine*

La famille aromatique du végétal dans les vins rouges recouvre une large diversité de nuances. Nos travaux révèlent que celles-ci n'ont pas toujours de lien direct avec les composés connus (2-méthoxy-3-alkylpyrazines, alcools en C6). Aussi, après avoir été définie sensoriellement, les déterminants moléculaires de cette famille d'odeurs ont été recherchés en s'appuyant, à partir de vins représentatifs, sur différentes techniques de fractionnement (CLHP, distillation sous vide) puis MDCPG-O-SM. Une première origine de ces nuances a été développée, celle associée à la maturité des raisins. La présence du 1,8-cinéole (eucalyptol), avec des notes « vertes », selon une origine variétale en lien avec la maturité des raisins a pu être attestée dans les vins de Cabernet Sauvignon. La capacité d'un cépage à en produire des quantités significatives (Fer Servadou) ainsi qu'une origine exogène associée à la présence d'une espèce d'armoise au vignoble (*Artemisia verlotiorum*) sont aussi établis. Une autre origine d'apparition des nuances végétales a été considérée : le pressurage des marcs. Cette étude montre le lien étroit entre la catégorie aromatique des vins de presse et la famille du végétal. En outre, elle révèle la présence de divers marqueurs odoriférants, en particulier le (Z)-4-heptenol dont l'évolution est corrélée au niveau de pression et la contribution sensorielle établie, à l'inverse de la plupart des alcools en C6 ; de même qu'elle suggère l'implication de plusieurs composés carbonylés à l'odeur caractéristique des vins de presse. L'influence des paramètres technologiques (inertage, pression, SO<sub>2</sub>, FML) est aussi précisée. La présence du salicylate de méthyle comme marqueur de défense de la plante contre plusieurs maladies cryptogamiques (mildiou, black rot, esca) et comme contributeur à l'odeur végétale de certains vins rouges a enfin pu être démontrée.

**Mots clefs :** vins rouges, arômes végétaux, notes vertes, maturité, pressurage, origine exogène, 1,8-cinéole, salicylate de méthyle

---

## Contribution to the aromatic knowledge of red wines :

### *Sensory and molecular approach of the green nuances related to their origin*

The green aromas family includes in red wines a large diversity of nuances. First, this study revealed that these nuances are not directly related to known compounds (e.g. 2-méthoxy-3-alkylpyrazines, C6 alcohols). After a sensory definition, the molecular determinants of these aroma nuances were investigated based on fractionation strategies including HPLC and vacuum distillation then MDGC-O-MS. A first source of nuances associated with grapes ripeness was developed. The presence of 1,8-cineole (eucalyptol) with a varietal origin was evidenced in Cabernet Sauvignon wines. The ability of a grape variety to produce significant amounts (Fer Servadou) and an exogenous origin associated with the presence of *Artemisia* species in vineyards (*Artemisia verlotiorum*) were also highlighted. Another origin, related to the pressing of grape marc was then considered. This study shown the connection between the aromatic category of press wines and the green aromas. Furthermore, it revealed the presence of odoriferous molecules including (Z)-4-heptenol, with a sensory contribution, associated to the increase of pressure in the press tank, but not for the majority of C6 alcohols. It also suggested the involvement of several carbonyl compounds in the characteristic odor of press wines. The influence of technological parameters (without oxygen, pressure, SO<sub>2</sub>, malolactic fermentation) was also specified. Finally, this study revealed the presence of methyl salicylate as a plant defense marker against several fungal diseases (downy mildew, black rot, esca) and as a contributor to fresh green aromas of certain red wines.

**Keywords :** red wines, green aromas, ripeness, pressing of marc, exogenous origin, 1,8-cineole, methyl salicylate

*À mes parents,*

## ***Remerciements***

Il serait impensable d'entamer de tels remerciements sans que j'exprime ma profonde gratitude au professeur Philippe Darriet, directeur de l'unité de recherche Œnologie. Il m'a accueilli au sein du laboratoire qu'il dirige en me permettant de mêler ma passion du vin et de l'œnologie à ce projet, ce défi : cette thématique de recherche qui nourrissait ma curiosité et ma sensibilité d'œnologue. Au cours de ces trois années, il m'a accordé confiance et liberté, tout en me donnant les moyens indispensables à celles-ci. Sa connaissance scientifique et sa hauteur de vue ont fait office de phare guidant notre navire ; sa qualité humaine lui a permis d'affronter les tumultes en conservant l'espérance de le mener à bon port. Qu'il soit alors assuré de mon estime et de mon impérissable reconnaissance.

Je remercie Monsieur Kees Van Leeuwen, Professeur à Bordeaux Science Agro, de m'avoir fait le très grand honneur d'accepter de présider le jury de thèse. Il y a plusieurs années, lorsque je dévorais ces cours d'agronomie avec passion, j'étais bien loin d'imaginer le retrouver à une telle occasion. Je m'en réjouis et lui témoigne de ma plus haute considération.

Je remercie également les autres membres du jury, Madame Ana Escudero, Professeur à l'université de Saragosse ; Monsieur Roland, Doyen de l'école de Changins ; Monsieur Thierry Thomas-Danguin, Chargé de recherche au Centre du Goût et de l'Alimentation de Dijon. Leur expertise, leur disponibilité et les échanges constructifs que nous avons pu avoir ont indiscutablement enrichi ce travail. Qu'ils trouvent ici une marque de déférence.

Je remercie le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche ainsi que la société Bucher-Vaslin de leur soutien financier à ce projet.

Je remercie par là même plusieurs propriétés et laboratoires œnologiques de leur soutien matériel : Château Lagrange, Château Cheval Blanc, Château Pape Clément, Château Haut-Bergey, Château Dauphiné-Rondillon, Château Pichon-Longueville Comtesse, Château Baron Pichon-Longueville, Château Petit-Village, Etablissements Jean-Pierre Moueix, Laboratoire Oeno-Conseil, Centre Œnologique de Pauillac avec une pensée particulière à Madame Sandra Duboscq, œnologue, dont l'œil expert et attentif m'a guidé sur la piste d'*Artemisia Verlotiorum*. Dans ce cadre, je remercie aussi Monsieur Alain Badoc, Maître de conférence à l'unité de recherche Œnologie, de sa précieuse aide dans l'identification de cette espèce.

Je me dois aussi de porter un remerciement particulier à Sophie Tempère, Maître de conférence à l'unité de recherche œnologie, pour ses remarquables conseils sur l'analyse sensorielle, mais aussi pour sa gentillesse et sa grande disponibilité. Qu'elle soit assurée de toute mon estime.

Je suis également reconnaissant envers Warren Albertin, Maître de conférence à l'unité de recherche œnologie, pour ses conseils et ses observations avisés qui ont permis, bien souvent, d'éclairer les obscures statistiques du logiciel R.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire des « procédés » dirigée par Madame Martine Mietton-Peuchot, Professeur de l'université de Bordeaux, d'avoir hébergé l'œnologue expérimental que je suis en lui permettant de réaliser un grand nombre de microvinifications. Je pense aussi aux enseignements que j'ai effectués à leur côté. Leur jovialité n'a jamais manqué d'égayer ces quelques années par de beaux éclats de rire. Que Rémy, Fabrice, Arnaud, Robin, Rémy (2), Soizic, Sandra, Marie, Juliette soient certains de ma sympathie à leur égard.

Je remercie l'UMR d'Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne de m'avoir accueilli généreusement, toujours avec gentillesse et pédagogie, pour la réalisation des broyages de matières végétales.

Je remercie aussi nombre de personnes appartenant à ce grand et beau navire qu'est l'ISVV et avec qui j'ai pu avoir d'excellents rapports professionnels durant les années passées en ce lieu : chercheurs et enseignants-chercheurs, personnels administratifs, informatiques ou de maintenance.

Je témoigne toute ma reconnaissance aux stagiaires que j'ai été amené à encadrer et dont la contribution est indissociable de ce projet : Coline Thomas, Chloé Ferron, Vanille-Charlotte Achaintre, Bastien Giraud, Pierre Moulis, Marie Malepeyre, Margaux Chaminade. Chacun, à son échelle, selon sa formation initiale, sa sensibilité et le temps qu'il avait à sa disposition, a apporté – toujours avec grand intérêt et motivation – les éléments indispensables à la construction de cette thèse. Qu'ils sachent que ce fût un réel plaisir de les avoir à mes côtés dans cette aventure scientifique, mais aussi humaine.

Je n'oublie ce que je dois à l'équipe du laboratoire, à commencer par Pascaline Redon, notre technicienne. Dois-je la remercier de m'avoir supporté durant toutes ces années ? Assurément. Mais je tiens surtout à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour son soutien, pour nos échanges, nos réflexions, nos interminables discussions, et même parfois nos différends qui se sont toujours soldés sur une note constructive. Elle trouvera en ces mots le témoignage de toute mon affection et de toute mon amitié.

Je remercie aussi Cécile Thibon, chargé de recherche INRA, de nos nombreux échanges, du travail que nous avons réalisé ensemble et de l'article qui en a suivi. Elle a toujours su, en s'appuyant sur son expérience, me prodiguer les conseils adéquats. Qu'elle soit pleinement assurée de ma considération.

Je remercie Alexandre Pons, chercheur détaché de Seguin Moreau, pour nos discussions scientifiques, techniques et œnologiques, toujours très enrichissantes. Je salue sa grande expertise scientifique.

Je n'oublie pas, bien sûr, les autres membres de l'équipage, des coéquipiers avec qui j'ai pu travailler quelques mois ou quelques années : Rakusa, Lemia, Caroline, Fannie. J'exprime une pensée toute particulière à Blandine, ma « coéquipière de thèse » ; je la remercie de ces trois années passées à avancer conjointement. À tous, je formule des vœux sincères de bonheur et de réussite dans les nouvelles directions qu'ont empruntées leurs vies.

Je pense aussi à Jacques, fidèle compagnon de route et des moments difficiles. Nous avons commencé l'aventure ensemble, le même jour, avec la même passion et les mêmes espérances. Très vite, par nos prolixes échanges, nous avons enrichi respectivement nos cultures œnologiques et brassicoles et les avons soudées autour d'une réelle amitié qui, selon Montaigne, se nourrit de la discussion. Cette expérience nous a changée, nous a construit, nous a grandi. Je le remercie de son soutien et lui souhaite tous mes vœux de réussite et d'épanouissement personnel dans sa nouvelle perspective.

Je remercie Takis de sa gentillesse, de sa simplicité et de sa clémence – certainement d'origine méditerranéenne – dont la constance que je salue force la plus haute admiration. Qu'il sache que ce fût un véritable plaisir de travailler à ces côtés durant ces quelques années et qu'il trouve ici le témoignage de mes meilleurs sentiments ainsi que de ma plus sincère et de ma plus fidèle amitié.

Enfin, je remercie Lucile. L'un comme l'autre, nous avons connu des fluctuations, des bouleversements, dû faire face aux épreuves matérielles et psychologiques inhérentes à tout projet de recherche et de thèse. C'est ainsi qu'une étonnante complicité et une amitié sincère se sont forgées. Je la remercie de son soutien de tous les instants et lui souhaite une entière réussite professionnelle et personnelle.

J'exprime une pensée à mes anciens maîtres de stage. Je remercie Roland Hellmann, chercheur à l'université de Grenoble, pour ces quelques mois passés à ces côtés qui m'ont transmis, très tôt, le goût de la recherche et de la démarche scientifique. Je remercie Étienne Charrier, directeur technique du Château Prieuré-Lichine, de m'avoir transmis, avec gentillesse et passion, de nobles connaissances sur la vinification des grands vins rouges de Bordeaux. Je remercie Philippe Guigal, ainsi que toute sa famille, de m'avoir accueilli quelques mois, avec une exceptionnelle gentillesse, au sein de leur domaine et permis d'en apprendre un peu plus sur ces vins merveilleux de la vallée du Rhône Nord qu'ils élaborent avec passion et savoir-faire. J'apporte une pensée chaleureuse à Georges et à sa femme, dont cette expérience nous a permis de nouer des liens d'amitié durables.

Au travers d'une pensée, je rends hommage au Professeur Denis Dubourdieu qui nous a quittés récemment. Je salue le scientifique, le vinificateur et le professeur dont la vision du vin, poétique et éclairée, n'a jamais manqué de séduire l'étudiant que j'étais. Incontestablement, les nombreuses graines qu'il a semées germeront encore longtemps dans mon esprit, ainsi que dans celui des passionnés et des amoureux du vin.

Je remercie tous mes collègues et amis œnologues, membres de l'Union des Œnologues de France, membres de l'observatoire des pratiques œnologiques, membres de l'équipe organisatrice du congrès des œnologues, membres de l'association des œnologues de Bordeaux, et les autres.

Je remercie mes amis – la famille choisie – qui portent chacun en eux un fragment de l'épanouissement nécessaire à une vie, et qui m'ont apporté un soutien indéfectible depuis tant d'années. J'ai une pensée toute particulière pour Romain dont nos parcours sont intimement mêlés depuis de nombreuses années, au point même de soutenir nos thèses à quelques mois d'intervalle. Je pense aussi à Fabien et Angela, à Vanh et Lucille, à Simon et Coralie, à Nadège et Thibaut, mais aussi à Robin, Raph, Camille, Jordan, Florent, Dimitri, Nelcy, Alexis et Sylvie, Raphaël et Julie, Nicolas et Solange, Quentin, Pierre, et bien d'autres encore. Je les remercie simplement d'être ce qu'ils sont.

J'exprime de tout cœur ma reconnaissance à mes parents, sans qui rien n'aurait jamais été possible. Je les remercie d'avoir toujours été présents, de m'avoir offert les moyens de l'intelligence et de la réflexion, de m'avoir donné l'éveil et la curiosité des choses, de m'avoir encouragé à aller toujours plus loin et à donner le meilleur de moi-même pour ne jamais avoir à s'arranger avec le regret, de m'avoir laissé la liberté de vivre mes passions, de choisir mes ambitions tout en m'offrant les moyens, le soutien et les mots pour les atteindre.

Enfin, je finirais ces remerciements par une pensée émue et toute particulière pour Clémence, celle qui partage ma vie et qui m'a accompagnée et soutenue durant toute cette aventure. Jamais un prénom n'avait aussi bien été associé à une personne. Sa constance, sa douceur, sa gentillesse, son intelligence, sa clairvoyance et sa patience ont été autant d'éléments de soutien et de réconfort essentiels à la réussite de cette thèse qui lui appartient dans une large mesure.



*“Il faut toujours connaître les limites du possible. Pas pour s'arrêter,  
mais pour tenter l'impossible dans les meilleures conditions.”*

**Romain Gary**

# SOMMAIRE

|                                   |          |
|-----------------------------------|----------|
| <b>INTRODUCTION GÉNÉRALE.....</b> | <b>1</b> |
|-----------------------------------|----------|

|                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| <b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b> | <b>5</b> |
|------------------------------------|----------|

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 1.       | LES AROMES VEGETAUX/VERTS .....  | 6         |
| 1.1.     | Généralités .....  | 6         |
| 1.2.     | Les nuances aromatiques végétales/vertes dans les vins .....   | 9         |
| 1.2.1.   | Définition .....   | 9         |
| 1.2.2.   | L'impact des nuances « végétales » dans la perception fruitée des vins rouges .....  | 11        |
| 1.3.     | Les composés contribuant aux nuances aromatiques « végétales » des vins rouges.....  | 13        |
| 1.3.1.   | Les méthoxypyrazines.....  | 13        |
| 1.3.2.   | Les composés aliphatiques .....  | 20        |
| 1.3.3.   | Les composés terpéniques.....  | 24        |
| 1.3.4.   | Les composés soufrés volatils .....  | 28        |
| 1.3.5.   | Autres composés.....   | 30        |
| 2.       | LES METHODES D'ANALYSE DES COMPOSES VOLATILS EN ŒNOLOGIE .....   | 32        |
| 2.1.     | Méthodes d'extraction.....   | 32        |
| 2.1.1.   | Généralités sur les techniques d'extraction.....   | 32        |
| 2.1.2.   | Principales techniques d'extraction appliquées à l'Œnologie .....  | 32        |
| 2.1.3.   | Comparaison des performances des méthodes d'extraction.....  | 34        |
| 2.2.     | Méthodes de séparation et d'analyse.....   | 35        |
| 2.2.1.   | La Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à l'Olfactométrie (CPG-O) .....  | 35        |
| 2.2.2.   | La Chromatographie en Phase Gazeuse multidimensionnelle.....   | 37        |
| 2.2.2.1. | <i>La Chromatographie en Phase Gazeuse bidimensionnelle (CPG-CPG).....</i>   | <i>37</i> |
| 2.2.2.2. | <i>La Chromatographie en Phase Gazeuse bidimensionnelle compréhensive ou Chromatographie intégralement bidimensionnelle (CPG x CPG).....</i>   | <i>38</i> |
| 2.2.3.   | La Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).....   | 40        |
| 2.3.     | Exemple de méthodes d'analyse de composés volatils dans le vin : les méthodes de dosage des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines et leur optimisation par l'utilisation des plans d'expérience ..... | 42        |
| 3.       | L'ANALYSE SENSORIELLE .....  | 44        |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 3.1.     | La perception des odeurs.....   | 44 |
| 3.1.1.   | Introduction.....   | 44 |
| 3.1.2.   | Physiologie du système olfactif .....   | 44 |
| 3.1.2.1. | <i>La muqueuse olfactive.....</i>   | 45 |
| 3.1.2.2. | <i>Les récepteurs olfactifs .....</i>   | 46 |
| 3.1.2.3. | <i>Le bulbe olfactif.....</i>   | 47 |
| 3.1.2.4. | <i>Le cortex cérébral.....</i>  | 47 |
| 3.2.     | Les interactions perceptives .....  | 48 |
| 3.2.1.   | Les mécanismes physiologiques .....   | 48 |
| 3.2.2.   | La perception d'un mélange d'odeur.....   | 48 |
| 3.2.2.1. | <i>La modulation qualitative .....</i>  | 49 |
| 3.2.2.2. | <i>La modulation quantitative .....</i>   | 51 |
| 3.2.3.   | Les interactions perceptibles en Œnologie .....   | 53 |
| 3.2.3.1. | <i>Généralités.....</i>   | 53 |
| 3.2.3.2. | <i>Exemple d'interactions perceptives pouvant contribuer à moduler les nuances « végétales ».....</i> | 54 |
| 3.3.     | L'évaluation sensorielle .....  | 55 |
| 3.3.1.   | Introduction.....   | 55 |
| 3.3.2.   | Les notions d'évaluation qualitative et quantitative .....  | 56 |
| 3.3.3.   | Les épreuves sensorielles .....   | 56 |
| 3.3.3.1. | <i>Les épreuves discriminatives.....</i>  | 56 |
| 3.3.3.2. | <i>Les épreuves descriptives.....</i>   | 57 |
| 3.3.3.3. | <i>Les épreuves hédoniques.....</i>   | 58 |
| 3.3.4.   | Les facteurs conditionnant le résultat de l'évaluation.....   | 58 |
| 4.       | LA NOTION DE TYPICITE .....   | 60 |
| 4.1.     | Définition du concept.....  | 60 |
| 4.2.     | Exemple d'études sur la typicité des vins.....  | 62 |
| 5.       | LES VINS DE PRESSE.....   | 64 |
| 5.1.     | Origines et procédés d'élaborations .....   | 64 |
| 5.2.     | Principales caractéristiques des vins de presse .....   | 65 |
| 5.2.1.   | Caractéristiques physico-chimiques .....  | 65 |
| 5.2.2.   | Caractéristiques organoleptiques .....  | 66 |

## MATERIELS ET METHODES .....67

|          |  |    |
|----------|--|----|
| 1.       | GÉNÉRALITÉS.....   | 68 |
| 1.1.     | Raisins et matériel végétal.....   | 68 |
| 1.1.1.   | Préparation des extraits de raisin .....   | 68 |
| 1.1.2.   | Préparation des extraits <i>d'Artemisia vulgaris</i> et <i>Artemisia verlotiorum</i> .....   | 68 |
| 1.2.     | Microvinifications.....  | 69 |
| 1.3.     | Réalisation des essais de pressurage .....   | 69 |
| 1.4.     | Constitution des milieux modèles.....  | 71 |
| 1.5.     | Vins.....  | 72 |
| 1.5.1.   | Présélection de vins utilisée pour l'étude du champ lexical associée au descripteur « végétal » .....  | 72 |
| 1.5.2.   | Vins commerciaux et expérimentaux utilisés pour l'étude des corrélations entre les nuances aromatiques végétales et les marqueurs moléculaires connus..... | 73 |
| 1.5.3.   | Vins obtenus à partir des expérimentations de pressurage.....  | 75 |
| 1.5.3.1. | Millésime 2013.....  | 75 |
| 1.5.3.2. | Millésime 2015.....  | 75 |
| 1.5.3.1. | Millésime 2014.....  | 76 |
| 1.6.     | Questionnaire .....  | 76 |
| 2.       | ANALYSE SENSORIELLE.....   | 77 |
| 2.1.     | Conditions expérimentales et paramètres généraux .....   | 77 |
| 2.2.     | Panel .....  | 78 |
| 2.3.     | Épreuves descriptives.....   | 79 |
| 2.3.1.   | Génération d'un vocabulaire libre.....   | 79 |
| 2.3.2.   | Évaluation de l'intensité de descripteurs odorants .....   | 80 |
| 2.3.2.1. | Caractérisation d'un mélange binaire .....   | 81 |
| 2.4.     | Épreuves discriminatives.....  | 81 |
| 2.4.1.   | Test triangulaire.....   | 81 |
| 2.4.2.   | Seuil de détection olfactive .....   | 82 |
| 2.5.     | Évaluation du niveau d'exemplarité.....  | 83 |
| 2.5.1.   | Famille aromatique du « végétal » et du « fruité ».....  | 83 |
| 2.5.2.   | Catégorie aromatique « vin de presse » .....   | 84 |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 3.       | ANALYSE INSTRUMENTALE .....   | 85 |
| 3.1.     | Produits chimiques employés .....   | 85 |
| 3.2.     | Techniques d'extraction et de fractionnement.....   | 86 |
| 3.2.1.   | Extraction par SPME .....   | 86 |
| 3.2.2.   | Extraction liquide/liquide des vins rouges .....  | 86 |
| 3.2.3.   | Distillation sous vide .....  | 87 |
| 3.2.4.   | Fractionnement par CLHP semi-préparative .....  | 87 |
| 3.2.5.   | Extraction liquide/liquide des fractions obtenues par CLHP semi-préparative ou distillation.....  | 88 |
| 3.3.     | Techniques de chromatographie couplée à l'olfactométrie .....   | 88 |
| 3.3.1.   | Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O) .....  | 88 |
| 3.3.2.   | Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse et à un mode de détection olfactométrique (MDCPG-SM-O)..... | 89 |
| 3.3.2.1. | Configuration 1 .....   | 89 |
| 3.3.2.2. | Configuration 2 .....   | 90 |
| 3.4.     | Méthodes de quantification utilisées .....  | 91 |
| 3.4.1.   | Méthode 1 : 2-alkyl-3-méthoxypyrazines.....   | 91 |
| 3.4.2.   | Méthode 2 : alcools en C6, 1,4 et 1,8-cinéole, (Z)-4-heptenol, $\alpha$ -thujone, salicylate de méthyle et d'éthyle.....                          | 94 |
| 3.4.3.   | Méthode 3 : alcools en C6, 6-méthyl-5-hepten-2-one, méthionol, méthional, (Z)-4-heptenol.....   | 96 |
| 3.4.4.   | Méthode 4 : composés carbonylés .....   | 98 |

## **PARTIE 1. APPROCHE SENSORIELLE ET ANALYTIQUE DE LA FAMILLE AROMATIQUE DU « VÉGÉTAL » DANS LES VINS.....100**

### **Chapitre 1. Étude du champ lexical couvert par le descripteur « végétal » dans les vins rouges.....101**

|        |  |     |
|--------|--|-----|
| 1.     | INTRODUCTION .....   | 101 |
| 2.     | APPROCHE PAR L'ANALYSE SENSORIELLE DE LA FAMILLE AROMATIQUE DU VÉGÉTAL .....                 | 102 |
| 2.1.   | Première approche descriptive de nuances aromatiques autour d'une présélection de vins ..... | 102 |
| 2.1.1. | Sélection des vins .....   | 102 |
| 2.1.2. | Évaluation des vins sélectionnés par génération libre de vocabulaire.....                    | 102 |
| 3.     | CONCLUSION .....   | 105 |

## **Chapitre 2. Développement d'une méthode de quantification de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines par SPME-CPG couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).....106**

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 1.       | INTRODUCTION .....   | 106        |
| 2.       | OPTIMISATION DE LA MÉTHODE DE QUANTIFICATION .....   | 107        |
| 2.1.     | Optimisation des paramètres de SPME .....  | 107        |
| 2.1.1.   | Protocole expérimental .....   | 107        |
| 2.1.2.   | Type de fibre SPME et pH .....   | 109        |
| 2.1.3.   | Temps et température d'incubation, vitesse d'agitation.....  | 109        |
| 2.1.4.   | Dilution et quantité de sel ajoutée.....   | 111        |
| 2.2.     | Optimisation des paramètres de spectrométrie de masse.....   | 113        |
| 2.2.1.   | Approches préliminaires .....  | 113        |
| 2.2.2.   | Énergie de collision et pression du gaz de collision .....   | 114        |
| 2.2.3.   | Optimisation des autres paramètres.....  | 115        |
| 2.3.     | Validation de la méthode de quantification .....   | 116        |
| 2.3.1.   | Paramètres de performance .....  | 116        |
| 2.3.2.   | Estimation du niveau d'incertitude de la méthode .....   | 117        |
| 2.3.2.1. | <i>L'incertitude associée à la préparation des standards (<math>U_1</math>) .....</i>                                  | <i>118</i> |
| 2.3.2.2. | <i>L'incertitude associée à la courbe de calibration (<math>U_2</math>).....</i>                                       | <i>120</i> |
| 2.3.2.3. | <i>L'incertitude associée à la précision de la mesure (<math>U_3</math>) et à l'exactitude (<math>U_4</math>).....</i> | <i>121</i> |
| 2.3.2.4. | <i>L'incertitude globale et élargie .....</i>  | <i>123</i> |
| 3.       | CONCLUSION .....   | 126        |

## **Chapitre 3. Premières approches dans la recherche de marqueurs des nuances aromatiques végétales : relation avec des marqueurs moléculaires connus .....127**

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 1.   | INTRODUCTION .....  | 127 |
| 2.   | LA SÉLECTION DES MODÈLES D'ÉTUDES DU DESCRIPTEUR "VEGETAL" .....  | 128 |
| 2.1. | Approche de la caractérisation de la famille aromatique du végétal par un protocole de catégorisation aromatique..... | 128 |
| 2.2. | Sélection de vins présentant des profils sensoriels contrastés.....   | 130 |
| 3.   | CONFRONTATION DES DONNÉES D'ANALYSE SENSORIELLE AVEC LE DOSAGE DES ALCOOLS EN C6 ET DES MÉTHOXYPYRAZINES .....        | 133 |
| 3.1. | Quantification des alcools en C6 et des méthoxypyrazines dans les vins du modèle d'étude ..                           | 133 |

|      |  |     |
|------|--|-----|
| 3.2. | Étude de la relation entre les variables sensorielles et analytiques ..... | 135 |
| 4.   | ETUDE DE L'IMPACT SENSORIEL DES MOLECULES ETUDIEES .....                   | 138 |
| 4.1. | Considérations des alcools en C6 insaturés .....                           | 138 |
| 4.2. | Considération de la sBMP et de l'IPMP.....                                 | 139 |
| 5.   | CONCLUSION .....   | 142 |

## **PARTIE 2. RECHERCHE DE NOUVEAUX MARQUEURS VOLATILS DES NOTES VÉGÉTALES EN LIEN AVEC LE STADE DE MATURITÉ DES RAISINS .....144**

### **Chapitre 4. Approche sensorielle et analytique ciblée sur des vins expérimentaux issus de raisins noirs récoltés à des stades de maturité contrastés.....145**

|          |   |     |
|----------|---|-----|
| 1.       | INTRODUCTION.....   | 145 |
| 2.       | VALIDATION DU MODÈLE D'ÉTUDE .....  | 146 |
| 3.       | MISE EN ÉVIDENCE DE FRACTIONS D'INTÉRÊT PAR CLHP SEMI-PREPARATIVE .....   | 148 |
| 3.1.     | Caractérisation olfactive.....  | 148 |
| 3.2.     | Validation de l'impact sensoriel des fractions d'intérêt .....  | 149 |
| 4.       | ANALYSE DES FRACTIONS D'INTÉRÊT PAR MDCPG-O-SM/TOF ET CARACTERISATION DE COMPOSES AUX NUANCES VEGETALES.....    | 151 |
| 4.1.     | Zones odorantes d'intérêt avec identification du composé.....   | 154 |
| 4.1.1.   | ZO 2 : 1,8-cinéole.....   | 154 |
| 4.1.2.   | ZO 5, 13 : IBMP et IPMP .....   | 155 |
| 4.1.3.   | ZO 1, 3, 4, 14, 16, 20 : alkanal, alkenals et alkadienals.....  | 156 |
| 4.1.4.   | ZO 21 : salicylate de méthyle .....   | 157 |
| 4.1.5.   | ZO 22 : (E)-1-(2,3,6-triméthylphenyl)buta-1,3-diene (TBP) .....   | 158 |
| 4.1.6.   | ZO 7, 8, 17, 18 : 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine, 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine, safranal, benzoate d'éthyle.....  | 159 |
| 4.2.     | Zones odorantes d'intérêt avec identification partielle (tentative) ou absence d'identification du composé..... | 161 |
| 4.2.1.   | ZO 6 : « terreux, végétal ».....  | 161 |
| 4.2.2.   | ZO 9 à ZO 16 .....  | 162 |
| 4.2.2.1. | ZO 11 et 12 : « vert, frais » .....   | 163 |
| 4.2.2.2. | ZO 9 et ZO 10 : « pastèque, goyave, vert ».....   | 163 |
| 4.2.2.3. | ZO 15 : « feuille de géranium » .....   | 165 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2.3. ZO 19 : « feuille de géranium » ..... | 166 |
| 5. CONCLUSION .....                          | 168 |

## **Chapitre 5. Étude du 1,8-cinéole dans les vins rouges selon une origine variétale .....170**

|  |     |
|--|-----|
| 1. INTRODUCTION .....  | 170 |
| 2. ANALYSE QUANTITATIVE DU 1,8-CINEOLE DANS LES VINS ROUGES .....  | 171 |
| 2.1. Dosage du 1,8-cinéole dans les modèles d'étude de la maturité des raisins .....   | 171 |
| 2.2. Teneurs en 1,8-cinéole dans les « bons » et les « mauvais modèles » de la famille aromatique du végétal.....                      | 172 |
| 2.3. Dosage du 1,8-cinéole dans les vins rouges français .....   | 173 |
| 3. ESTIMATION DE L'IMPACT SENSORIEL DU 1,8-CINEOLE DANS LES VINS.....  | 175 |
| 3.1. Appréciation orthonasale de l'intensité du descripteur végétal.....   | 177 |
| 3.2. Évaluation de l'intensité des descripteurs « mentholé » et « poivron vert ».....  | 178 |
| 4. Évolution des concentrations en 1,8-cinéole dans les raisins et les vins en fonction de composantes du terroir : climat et sol..... | 180 |
| 5. CONCLUSION .....  | 181 |

## **Chapitre 6. Localisation dans la baie et évolution au cours de la maturation du 1,8-cinéole et des autres marqueurs d'arômes végétaux.....183**

|  |     |
|--|-----|
| 1. INTRODUCTION.....   | 183 |
| 2. QUANTIFICATION DU 1,8-CINEOLE ET DE L'IBMP DANS LES RAISINS DU MODELÉ D'ÉTUDE DE LA MATURITÉ..... | 184 |
| 3. CINÉTIQUE D'ÉVOLUTION DES COMPOSES VÉGÉTAUX AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE LA BAIE .....            | 185 |
| 3.1. 1,8-cinéole.....  | 185 |
| 3.2. IPMP, sBMP et alcools en C6 .....   | 187 |
| 4. LOCALISATION DU 1,8-CINEOLE DANS LA GRAPPE ET DANS LA BAIE.....                                   | 188 |
| 5. CONCLUSION .....  | 191 |

## **PARTIE 3. ETUDE DE LA CATEGORIE AROMATIQUE DES VINS DE PRESSE.192**

### **Chapitre 7. Définition sensorielle de la catégorie aromatique « vin de presse » .....193**

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| 1. INTRODUCTION ..... | 193 |
|-----------------------|-----|



|  |     |
|--|-----|
| 2. PREMIÈRE APPROCHE DU CONCEPT DE « VIN DE PRESSE » PAR LE BIAIS D'UN QUESTIONNAIRE ..... | 194 |
| 3. CARACTÉRISATION DE L'ESPACE SENSORIEL PROPRE AUX VINS DE PRESSE.....                    | 196 |
| 4. CONCLUSION .....  | 199 |

## **Chapitre 8. Approche analytique non ciblée de la catégorie aromatique des vins de presse..... 201**

|   |     |
|---|-----|
| 1. INTRODUCTION .....   | 201 |
| 2. APPROCHE PRÉLIMINAIRE DANS LA RECHERCHE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES VÉGÉTAUX ASSOCIÉS AUX VINS DE PRESSE.....  | 202 |
| 2.1. Analyse des extraits organiques bruts par CPG-O .....  | 202 |
| 2.2. Fractionnement par CLHP semi-préparative .....   | 203 |
| 3. APPROCHE DANS LA RECHERCHE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES VÉGÉTAUX PAR LA DISTILLATION SOUS VIDE.....             | 204 |
| 3.1. Caractérisation olfactive des fractions de distillation et réalisation de tests sensoriels .....           | 204 |
| 3.2. Caractérisation des composés volatils associés aux fractions de distillations par CPG-O et MDCPG-O-SM..... | 206 |
| 3.2.1. Caractérisation de la fraction V2 .....  | 207 |
| 3.2.1.1. <i>Caractérisation par CPG-O</i> .....   | 207 |
| 3.2.1.2. <i>Identification des composés associés aux zones odorantes d'intérêt par MDCPG-O-SM</i> .....         | 208 |
| 3.3. Caractérisation de la fraction Vr .....  | 211 |
| 3.3.1. Caractérisation par CPG-O et MDCPG-O .....   | 211 |
| 3.3.2. Tentative d'identification des composés associés aux zones odorantes d'intérêt par MDCPG-O-SM.....       | 212 |
| 3.4. Conclusion .....   | 213 |
| 4. QUANTIFICATION DES COMPOSES IDENTIFIÉS.....  | 213 |
| 5. ÉVALUATION SENSORIELLE DE LA 6-METHYL-5-HEPTEN-2-ONE ET DU (Z)-4-HEPTENOL.....                               | 216 |
| 5.1. Estimation de l'impact de la 6-méthyl-5-hepten-2-one par un test triangulaire.....                         | 216 |
| 5.2. Détermination du seuil de détection olfactive du (Z)-4-heptenol.....                                       | 217 |
| 6. CONCLUSION .....   | 218 |

## **Chapitre 9. Approche analytique ciblée de la catégorie aromatique des vins de presse.....219**

|  |     |
|--|-----|
| 1. INTRODUCTION.....   | 219 |
| 2. DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE SÉRIES D'ALKANALS, ALKENALS, ALKADIENALS ET ALKADIENONE PAR SPME-CPG-SM.....                                 | 220 |
| 2.1. Protocole expérimental .....  | 221 |
| 2.1.1. Optimisation de la méthode.....   | 221 |
| 2.1.2. Validation de la méthode.....   | 222 |
| 2.2. Optimisation des paramètres de préparation et d'extraction des échantillons.....  | 223 |
| 2.2.1. Type de fibre et quantité de sel ajoutée .....  | 223 |
| 2.2.2. Temps et température d'incubation, concentration en pFBHA et dilution.....  | 223 |
| 2.3. Validation de la méthode.....   | 226 |
| 3. QUANTIFICATION DES COMPOSÉS CIBLES DANS LES VINS ROUGES .....   | 228 |
| 3.1. Quantification de la (Z)-1,5-octadien-3-one et du (Z)-4-heptenal.....   | 228 |
| 3.2. Quantification des alkanals, alkenals et alkadienals dans les vins de goutte et de presse expérimentaux en lien avec le stade de maturité des raisins ..... | 229 |
| 4. CONCLUSION .....  | 234 |

## **Chapitre 10. Impact sensoriel de composés susceptibles de contribuer à l'expression aromatique des vins de presse .....235**

|  |     |
|--|-----|
| 1. INTRODUCTION.....   | 235 |
| 2. ESTIMATION DE L'IMPACT SENSORIEL DES ALKANALS, ALKENALS ET ALKADIENALS..... | 237 |
| 3. MISE EN ÉVIDENCE DE CONTRIBUTEURS DE L'AROME DES VINS DE PRESSE.....        | 239 |
| 4. CONCLUSION .....  | 244 |

## **Chapitre 11. Influence de paramètres technologiques sur la composante aromatique des vins de presse .....245**

|   |     |
|---|-----|
| 1. INTRODUCTION.....  | 245 |
| 2. INFLUENCE DE PARAMÈTRES TECHNOLOGIQUES SUR LES CONCENTRATIONS EN COMPOSÉS VOLATILS .....                               | 246 |
| 2.1. Influence du pressurage sur le niveau de concentration des alcools en C6 dans les vins .....                         | 246 |
| 2.2. Influence du pressurage et de l'inertage sur les teneurs en (Z)-4-heptenol dans les vins .....                       | 248 |
| 2.3. Influence de la pression, de l'inertage, du sulfitage et de la FML sur la concentration des composés carbonylés..... | 251 |

|   |  |            |
|---|--|------------|
| 2.3.1.  | Impact du dioxyde de soufre sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one .....  | 255        |
| 3.  | INFLUENCE DE PARAMÈTRES TECHNOLOGIQUES SUR L'EXPRESSION AROMATIQUE DES VINS DE PRESSE .....  | 256        |
| 4.  | CONCLUSION .....   | 259        |
| <b><u>PARTIE 4. PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX ET COMPOSANTE AROMATIQUE VÉGÉTALE</u> .....</b>   |  | <b>261</b> |
| <b>Chapitre 12. Mise en évidence d'une origine exogène du 1,8-cinéole .....</b>   |  | <b>262</b> |
| 1.  | INTRODUCTION .....   | 262        |
| 2.  | ORIGINE ENVIRONNEMENTALE DU 1,8-CINEOLE LIEE A LA PRÉSENCE D'UNE ESPÈCE D'ARMOISE AU VIGNOBLE : <i>ARTEMISIA VERLOTIORUM</i> ..... | 263        |
| 2.1.  | Description des deux espèces d'armoises présentes au vignoble : <i>Artemisia verlotiorum</i> et <i>Artemisia vulgaris</i> .....    | 263        |
| 2.2.  | Authentification de la contamination par le dosage de l' $\alpha$ -thuyone dans les vins.....                                      | 265        |
| 3.  | CONCLUSION .....   | 267        |
| <b>Chapitre 13. Le salicylate de méthyle, comme contributeur de nuances aromatiques végétales, en réaction de défense de la plante aux pathogènes .....</b> |  | <b>269</b> |
| 1.  | INTRODUCTION .....   | 269        |
| 2.  | PREMIÈRE APPROCHE QUANTITATIVE DU SALICYLATE DE MÉTHYLE DANS LES VINS ROUGES .....   | 271        |
| 3.  | IMPACT SENSORIEL DU SALICYLATE DE MÉTHYLE .....  | 272        |
| 4.  | LOCALISATION DU SALICYLATE DE MÉTHYLE DANS LE RAISIN ET CINÉTIQUE D'EXTRACTION AU COURS DE LA VINIFICATION.....                    | 275        |
| 5.  | SALICYLATE DE MÉTHYLE ET NUISIBILITÉ DE MALADIES CRYPTOLOGIQUES .....  | 278        |
| 6.  | CONCLUSION .....   | 284        |
| <b>CONCLUSION GENERALE .....</b>  |  | <b>286</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>  |  | <b>292</b> |
| <b>ANNEXES .....</b>  |  | <b>328</b> |

# LISTE DES FIGURES

|   |     |
|---|-----|
| Figure 1. Roue des arômes du vin classé en famille et sous-famille (Noble <i>et al.</i> , 1987).  | 10  |
| Figure 2. Structures chimiques de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP), de la 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP) et de la 2-méthoxy-3-sec-butylpyrazine (sBMP).   | 13  |
| Figure 3. Évolution de la teneur en IBMP (exprimée pg/baie) des raisins de Cabernet franc ( <i>Vitis vinifera</i> L. Cv. Cabernet franc) à l'ombre (●) ou exposés à la lumière (○) en fonction du nombre de jours après floraison.  | 15  |
| Figure 4. Voie de biosynthèse hypothétique de l'IBMP dans le raisin adapté de Hashizume <i>et al.</i> , 2001 (Guillaumie <i>et al.</i> , 2013).   | 17  |
| Figure 5. Structures chimiques de la 3-méthoxy-2,5-méthylpyrazine (DMMP), de la 2-méthoxy-3,5-diméthylpyrazine (MDMP) et de la 2-méthoxy-3-éthylpyrazine (ETMP).  | 20  |
| Figure 6. Voie de biosynthèse des composés volatils dérivant des lipides, adaptée de Schwab <i>et al.</i> (2008).   | 21  |
| Figure 7. Structures chimiques des principaux monoterpènes présents dans les vins.  | 25  |
| Figure 8. Voie de formation hypothétique du 1,8-cinéole dans le raisin proposé par Wedler <i>et al.</i> (2015).   | 26  |
| Figure 9. Structure chimique du 1,8-cinéole, du 1,4-cinéole et de la pipéritone.  | 27  |
| Figure 10. Structure chimique de la (Z)-1,5-octadiène-3-one et du 2-éthoxy-3,5-hexadiène.   | 30  |
| Figure 11. Mécanisme réactionnel conduisant à la formation du 2-éthoxy-3,5-hexadiène dans les vins (Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2004).   | 31  |
| Figure 12. Génération et visualisation d'un chromatogramme en CPGxCPG (Dallüge <i>et al.</i> , 2003).   | 39  |
| Figure 13. Représentation des neurones olfactifs dans la cavité nasale et de la transmission de l'information depuis l'épithélium (EO) jusqu'au bulbe olfactif (BO) (Mescher, 2009).  | 45  |
| Figure 14. Codage combinatoire des composés odorants. Les récepteurs de couleur sont ceux activés par la molécule odorante à gauche (Malnic <i>et al.</i> , 1999).  | 46  |
| Figure 15. Résultats théoriques sur la qualité de l'odeur (modification qualitative) d'un mélange de deux odorants (Thomas-Danguin <i>et al.</i> , 2014).   | 50  |
| Figure 16. Résultats théoriques sur l'intensité de l'odeur (modification quantitative) d'un mélange de deux composés odorants (Thomas-Danguin <i>et al.</i> , 2014).  | 52  |
| Figure 17. Nombre de publications scientifiques associées aux termes « vin », « typicité » ou « typicalité » sur une période 1992-2015 obtenu à partir du moteur de recherche Scopus.   | 62  |
| Figure 18. Graphique du cycle de pressurage (pression en fonction du temps).  | 70  |
| Figure 19. Schéma du système de distillation sous vide.   | 87  |
| Figure 20. Principaux descripteurs obtenus par génération libre de vocabulaire, exprimés en fonction de leur score ( $N_{\text{citations}} \times N_{\text{juges}}$ ) et repérés selon les 3 sous-familles associées au descripteur végétal : végétal frais, cuit et sec. | 103 |
| Figure 21. Graphique des contours de l'IBMP (ordonnée*abscisse).  | 110 |
| Figure 22. Diagramme de surface (Temps ; Température) de l'IBMP.  | 111 |
| Figure 23. Matrice des interactions (Quantité de sel ; Facteur de dilution) de l'IBMP obtenue par un plan factoriel complet.  | 112 |
| Figure 24. Intensité des pics chromatographiques (aire du pic) des principales transitions de l'IBMP obtenue par l'application de quatre niveaux de tension dans la cellule de collision (volts).   | 115 |
| Figure 25. Variation de l'incertitude élargie (%) de l'IBMP, de l'IPMP et de la sBMP en fonction des concentrations de standards.   | 124 |
| Figure 26. Contribution de chacune des sources à l'incertitude globale (%) de l'IBMP à 25, 10 et 5 ng/L.  | 125 |
| Figure 27. Carte des individus (vins) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP) évalués sur leur degré d'exemplarité à la famille aromatique du « végétal ».   | 129 |
| Figure 28. Représentation graphique des variables (juges) dans l'espace de notation obtenu par l'Analyse en Composantes Principales.  | 130 |
| Figure 29. Moyenne des notes d'exemplarité centrées réduites des bons modèles (n=10) et des mauvais modèles (n=10) associées à la famille aromatique du végétal.  | 131 |

|   |     |
|---|-----|
| Figure 30. Carte des individus (bons et mauvais modèles) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP) évalués leur degré d'exemplarité à la famille aromatique du « végétal ».  | 132 |
| Figure 31. Représentation graphique des variables (juges) dans l'espace de notation obtenu par l'Analyse en Composantes Principales.  | 132 |
| Figure 32. Nuage de points des vins étudiés représentant les notes moyennes centrées réduites d'exemplarité à la famille aromatique du végétal en fonction des concentrations en IBMP (ng/L).   | 136 |
| Figure 33. Intensité moyenne du descripteur « végétal » dans les différentes modalités supplémentées par les alcools en C6 insaturés ou par l'IBMP.   | 139 |
| Figure 34. Intensité moyenne du descripteur « végétal » dans les différentes modalités supplémentées par la sBMP, l'IPMP, l'IBMP ou les trois méthoxypyrazines (MPs).   | 140 |
| Figure 35. Effet de l'addition de sBMP (1,5 ng/L) sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » d'un vin rouge contenant 2,5 ng/L d'IPMP. Représentation graphique [ $\sigma = f(\tau)$ ] par Patte et Laffort (1979).  | 141 |
| Figure 36. Effet de l'addition de sBMP (1,5 ng/L) et d'IPMP (2,5 ng/L) sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » d'un vin rouge contenant 20 ng/L d'IBMP. Représentation graphique [ $\sigma = f(\tau)$ ] par Patte et Laffort (1979).                              | 142 |
| Figure 37. Portions de chromatogrammes mettant en évidence la détection du 1,8-cinéole par MDCPG-O-SM/TOF (Analyse sur colonne BP1 après coupe sur colonne BP20 - 60 s-) à partir de fractions A issues de vins de modalité Maturité- (A) et de modalité Maturité+ (B).     | 154 |
| Figure 38. Structure chimique du salicylate de méthyle.   | 157 |
| Figure 39. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 11 avec le spectre théorique du (E)-1-(2,3,6-Triméthylphenyl)buta-1,3-diene.  | 158 |
| Figure 40. Structure chimique de la 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine et 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine, du safranal et du benzoate d'éthyle.  | 160 |
| Figure 41. Portion du chromatogramme obtenue après séparation des zones odorantes 9-16 sur la colonne BP1 par CPG multidimensionnelle (BP20 ; BP1) couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse à temps de vols (SM/TOF).   | 162 |
| Figure 42. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 9 avec le spectre théorique du (Z,Z)-3,6-nonadienal.  | 164 |
| Figure 43. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 19c avec le spectre théorique du (1-méthylpenta-1,3-dienyl)benzène.   | 167 |
| Figure 44. Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en 1,8-cinéole mesurées dans les modalités Maturité- et Maturité+ des vins de Cabernet Sauvignon du millésime 2014 (CS14), 2015 (CS15) et des vins de Merlot du millésime 2014 (Merlot 14).                                   | 171 |
| Figure 45. Distribution des teneurs en 1,8-cinéole ( $\mu\text{g/L}$ ) dans les vins appartenant à la catégorie des « bons » (n=10) et des « mauvais modèles » (n=10) établis au chapitre 3.  | 173 |
| Figure 46. Distribution du 1,8-cinéole ( $\mu\text{g/L}$ ) dans les vins français analysés (n=49).  | 173 |
| Figure 47. Intensité moyenne du descripteur « végétal », « poivron vert » et « mentholé ».  | 176 |
| Figure 48. Effet de l'addition du 1,8-cinéole (2,5 $\mu\text{g/L}$ ) sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » d'un vin rouge contenant 25 ng/L d'IBMP. Représentation graphique [ $\sigma = f(\tau)$ ] par Patte et Laffort (1979).                                | 178 |
| Figure 49. « Family-wise confidence level » sur le descripteur « mentholé » entre le témoin et le vin supplémenté par les différentes concentrations en 1,8-cinéole (0,3 ; 0,5 ; 0,7 ; 1 ; 1,5 $\mu\text{g/L}$ ).   | 179 |
| Figure 50. Concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) en 1,8-cinéole dans des vins de Merlot (moyenne $\pm$ écart type ; n=2) issus de parcelles cultivées sur les principaux sols de la région de Bordeaux (argile, sable, graves) au cours de trois millésimes (2002, 2006, 2007). | 180 |
| Figure 51. Concentration en 1,8-cinéole et en IBMP ( $\pm$ écart type) exprimée en ng/kg de matière fraîche dans les raisins de Cabernet Sauvignon ayant servi à l'élaboration du modèle d'étude de la maturité (millésime 2014 et 2015).                                   | 184 |
| Figure 52. Variation des concentrations ( $\mu\text{g/kg}$ et $\text{ng/kg}$ de matière fraîche) en IBMP et en 1,8-cinéole dans les raisins de Cabernet Sauvignon et de Merlot au cours du développement des baies sur le millésime 2015.                                   | 186 |
| Figure 53. Tendances d'évolution des concentrations ( $\mu\text{g/kg}$ ou $\text{ng/kg}$ de matière fraîche) en IBMP et en 1,8-cinéole durant le dernier mois de maturation des baies de Cabernet Sauvignon au cours du millésime 2015.                                     | 186 |
| Figure 54. Variation des concentrations ( $\text{ng/kg}$ de matière fraîche) en IPMP, sBMP et IBMP et (Z)-3-hexenol dans les raisins de Cabernet Sauvignon au cours du développement des baies (millésime 2015).  | 187 |
| Figure 55. Concentration en 1,8-cinéole ( $\mu\text{g/kg}$ de matière fraîche) dans les baies et les rafles des raisins de Cabernet Sauvignon des modalités Maturité- et Maturité+ du millésime 2015.   | 189 |
| Figure 56. Localisation du 1,8-cinéole dans la baie de raisin.  | 189 |
| Figure 57. Caractéristiques du jury (166 personnes) ayant participé au questionnaire, représentation en secteurs.   | 194 |

|  |     |
|--|-----|
| Figure 58. Images utilisées pour illustrer les 16 descripteurs du questionnaire. Corrélation au caractère presse, rouge : positivement corrélé ; orange : tendance positive ; bleu clair : tendance négative ; bleu foncé : négativement corrélé. ....   | 195 |
| Figure 59. Principaux descripteurs regroupés par synonymes et obtenus à partir d'une série de 5 vins rouges de presse et de 5 vins rouges de goutte.. ....   | 197 |
| Figure 60. Descripteurs « fruité » et « végétal » obtenus avec un regroupement par famille des termes générés à partir d'une série de 5 vins rouges de presse et de 5 vins rouges de goutte.. ....   | 198 |
| Figure 61. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 1 avec le spectre théorique de la 6-méthyl -5-hepten -2-one. ....  | 209 |
| Figure 62. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 2 avec le spectre théorique du (Z)-4-hepten-1-ol. ....   | 209 |
| Figure 63. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 3 avec le spectre théorique du $\beta$ -cyclocitral. ....  | 210 |
| Figure 64. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 2 avec le spectre théorique du 3-hexen-2-one.....  | 212 |
| Figure 65. Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en 6-méthyl-5-hepten-2-one et en (Z)-4-heptenol mesurées dans le vin de goutte et le vin de presse ayant permis leur identification (Bordeaux DR14, CS). ....  | 215 |
| Figure 66. Nombre de personnes en fonction de la concentration minimale en (Z)-4-heptenol ( $\mu\text{g/L}$ ) perçue dans un vin rouge de Bordeaux. ....   | 217 |
| Figure 67. Graphique des contours (ordonnée*abscisse) de la somme de surface des pics chromatographiques des alcanals. Paramètres analytiques : incubation 45 °C, 40 min, 1 g/L pFBHA. L'intensité des couleurs est proportionnelle à la réponse mesurée (aire du pic chromatographique). .... | 224 |
| Figure 68. Diagramme factoriel des interactions de la concentration en pFBHA et de la dilution sur la somme des alcanals. ....   | 225 |
| Figure 69. Diagramme factoriel des interactions de la concentration en pFBHA et de la température d'incubation sur la somme des alcanals (A), alkenals (B), alkadienals (C). ....  | 226 |
| Figure 70. Carte des individus (vins de presse et de goutte) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP).. ....   | 231 |
| Figure 71. Représentation graphique des variables (aldéhydes) dans l'espace de notation obtenu par l'Analyse en Composantes Principales (A). Représentation des groupes obtenus par une Classification Ascendante Hiérarchique (B). ....   | 232 |
| Figure 72. Carte des individus (vins de presse et de goutte) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP). ....  | 233 |
| Figure 73. Note moyenne d'exemplarité à la catégorie « vin de presse ». ....   | 238 |
| Figure 74. Intensité moyenne d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse ». (E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal (3N) ; (Z)-1,5-octadien-3-one (O) ; décanal (D). ....   | 243 |
| Figure 75. Note moyenne d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse ». (Z)-4-heptenol (Z4OH) ; (Z)-4-heptenal (Z4AL) ; (E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal (3N) ; (Z)-1,5-octadien-3-one (O) ; décanal (D). ....                                    | 243 |
| Figure 76. Distribution des concentrations en (E)-3-hexenol, (Z)-3-hexenol et hexanol ( $\mu\text{g/L}$ ) dans l'échantillonnage de vins analysés (n = 35 vins ; 7 vins par modalité de pressurage).....   | 247 |
| Figure 77. Distribution des concentrations en (E)-2-hexenol et (Z)-2-hexenol ( $\mu\text{g/L}$ ) dans l'échantillonnage de vins analysés (n = 35 vins ; 7 vins par modalité de pressurage).....  | 247 |
| Figure 78. Concentration en (E)-2-hexenol et (Z)-2-hexenol sur une série « type » (Pessac-Léognan HB14, CS).....   | 248 |
| Figure 79. Distribution des concentrations en (Z)-4-heptenol ( $\mu\text{g/L}$ ) dans l'échantillonnage de vins analysés comprenant les modalités de pressurage inertées et non inertées (n = 63 vins, 7 vins par modalité de pressurage).. ....   | 249 |
| Figure 80. Concentration en oxygène dissous des vins collectés aux différents paliers de pression (P1 à P4) au cours d'un pressurage inerté et non inerté. ....  | 250 |
| Figure 81. Concentrations en (Z)-4-heptenol sur une série « type » (Pessac-Léognan HB14, CS). ....   | 251 |
| Figure 82. Somme des concentrations en alcanals, alkenals et alkadienals en ng/L (Pomerol 15, M).....  | 252 |
| Figure 83. Diagramme factoriel des effets sur la somme des concentrations des alkadienals en C9 (ng/L) ; Pomerol 15, M.. ....  | 253 |
| Figure 84. Diagramme factoriel des effets sur la somme des concentrations des alcanals (ng/L) ; Pomerol 15, M.....   | 253 |
| Figure 85. Mécanisme réactionnel de combinaison bisulfite. ....  | 254 |

|  |     |
|--|-----|
| Figure 86. Diagramme factoriel des effets sur la somme des concentrations des alkadienals en C9 (ng/L) ; Bordeaux DR15, M.   | 255 |
| Figure 87. Concentration en (Z)-1,5-octadien-3-one ; (E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal en solution modèle (témoin) supplémentée par 50, 100 et 250 mg/L de SO <sub>2</sub> .  | 256 |
| Figure 88. Distribution des notes centrée réduites d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse » dans l'échantillonnage de vins analysés comprenant les modalités de pressurage inertées (i) et non inertées (ni).   | 257 |
| Figure 89. Feuilles d' <i>Artemisia verlotiorum</i> (vignoble de Pauillac) et d' <i>Artemisia vulgaris</i> (vignoble de Cognac) à différents stades de croissance.   | 263 |
| Figure 90. Structure chimique du 1,8-cinéole, $\alpha$ -thuyone et $\beta$ -thuyone.   | 264 |
| Figure 91. Distribution du salicylate de méthyle dans l'échantillonnage de vins analysés (n=98).   | 271 |
| Figure 92. Nombre de personnes en fonction de la concentration minimale perçue en solution modèle (A), dans un vin rouge de Bordeaux (B).  | 272 |
| Figure 93. Intensité moyenne du descripteur « végétal ». MeSA : salicylate de méthyle.   | 273 |
| Figure 94. Concentration ( $\mu\text{g/kg}$ de matière fraîche) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les rafles et dans les baies de Cabernet Sauvignon (millésime 2014).  | 276 |
| Figure 95. Évolution des concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en salicylate de méthyle (MeSA) au cours de la micro vinification des raisins sains de Cabernet Sauvignon (millésime 2015).  | 277 |
| Figure 96. Distribution des concentrations en salicylate de méthyle dans les vins expérimentaux obtenus à partir de vignes atteintes par le mildiou (n=10) ou de vignes de variétés résistantes (n=4) au cours des millésimes 2014 et 2015.  | 279 |
| Figure 97. Concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les vins expérimentaux de Merlot du millésime 2012 obtenus à partir d'ajouts croissants de baies atteintes par le mildiou (faciès « rot brut »).   | 279 |
| Figure 98. Concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les milieux modèles de fermentation en présence de baies saines (témoin), flétries naturellement, flétries sous l'action du mildiou (faciès « rot brun ») ou flétries sous l'action du black rot.        | 281 |
| Figure 99. Concentration ( $\mu\text{g/kg}$ de matière fraîche) en salicylate de méthyle (MeSA) des baies de Cabernet Sauvignon (millésime 2015) : saines (témoin), atteintes par la pourriture grise ou récoltées sur des plants de vigne touchés par l'Esca.                             | 282 |
| Figure 100. Concentration en salicylate de méthyle (MeSA), exprimée en % par rapport au témoin, dans les vins expérimentaux (fin de fermentation alcoolique) de raisins provenant de plants sains (témoin), modérément atteints par l'Esca (Esca1), fortement atteints par l'Esca (Esca2). | 283 |
| Figure 101. Concentration ( $\mu\text{g/kg}$ de matière fraîche) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les rafles de Cabernet Sauvignon du millésime 2015, récoltées sur des plants de vigne sains (témoin) ou touchés par l'Esca.  | 284 |

## **LISTE DES TABLEAUX**

|   |     |
|---|-----|
| Tableau 1. Seuil de détection olfactive dans l'eau ( $\mu\text{g/L}$ ) des principaux alcools et aldéhydes en C6 et C9.....   | 23  |
| Tableau 2. Récapitulatif des principaux composés soufrés volatils associés à des odeurs végétales dans les vins. ....   | 28  |
| Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques des vins de presse par rapport au vin de goutte (Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2007).<br>.....   | 65  |
| Tableau 4. Matrice d'échantillonnage des vins de presse de la propriété Pomerol 15, M (Merlot, millésime 2015). ....  | 71  |
| Tableau 5. Composition du milieu modèle de moût (Marullo <i>et al.</i> , 2005). ....  | 72  |
| Tableau 6. Vins utilisés au cours du chapitre 1.....  | 73  |
| Tableau 7. Vins utilisés au cours du chapitre 3.....  | 74  |
| Tableau 8. Vins obtenus par les expérimentations de pressurage réalisées au cours du millésime 2013. ....   | 75  |
| Tableau 9. Vins obtenus par les expérimentations de pressurage réalisées au cours du millésime 2015. ....   | 75  |
| Tableau 10. Vins obtenus par les expérimentations de pressurage réalisées au cours du millésime 2014.....   | 76  |
| Tableau 11. Récapitulatif des panels d'analyse sensorielle utilisés dans les différents chapitres. ....   | 78  |
| Tableau 12. Composition des échantillons présentés pour la détermination des seuils de perception. ....   | 82  |
| Tableau 13. Temps de rétention, transitions et énergies de collision pour les méthoxypyrazines quantifiées et pour l'étalon interne utilisé.....  | 93  |
| Tableau 14. Paramètres de validation de la méthode 2 de quantification .....  | 95  |
| Tableau 15. Paramètres de validation de la méthode 3 de quantification .....  | 97  |
| Tableau 16. Tableau récapitulatif des composés carbonylés analysés et de leur odeur mentionnant le temps de rétention des oximes formées avec le pFBHA et son ion caractéristique.....                                      | 99  |
| Tableau 17. Plan d'expérience de Box-Behnken pour l'optimisation des conditions d'analyse par SPME-CPG-MS/MS de méthoxypyrazines : température d'incubation, temps d'incubation et vitesse d'agitation. ....                | 108 |
| Tableau 18. Plan factoriel complet pour l'optimisation du facteur de dilution et de la quantité de NaCl pour la quantification de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines.....   | 108 |
| Tableau 19. Ions fils majoritaires après fragmentation dans la cellule de collision (tension fixe de 10 V) des principaux ions parents de l'IBMP, de l'IPMP, de la sBMP et de l'étalon interne [ $^2\text{H}_3$ ]-IBMP..... | 114 |
| Tableau 20. Récapitulatif des paramètres de validation de la méthode de quantification (linéarité, répétabilité, recouvrement, limite de détection et quantification) déterminés pour l'IBMP, l'IPMP et la sBMP. ....       | 116 |
| Tableau 21. Incertitudes $U_2$ liées à la courbe de calibration (%) à 25, 10 et 5 ng/L d'IBMP, IPMP et sBMP. ....   | 121 |
| Tableau 22. Incertitudes $U_3$ et $U_4$ associées à la précision de la mesure et à l'exactitude (%) à 25, 10 et 5 ng/L d'IBMP, IPMP et sBMP. ....   | 122 |
| Tableau 23. Incertitudes globales ( $U_i$ ) et incertitude élargie à 95 % de confiance avec un facteur $k=2$ ( $U$ ) de l'IBMP, de l'IPMP et de la sBMP à 25, 10 et 5 ng/L.....   | 123 |
| Tableau 24. Concentration en alcools en C6 (moyenne $\pm$ écart type $\mu\text{g/L}$ ) et en méthoxypyrazines (moyenne $\pm$ $U$ ng/L) et notes moyennes centrées réduites obtenues (fruité et végétal).....                | 134 |
| Tableau 25. Matrice de corrélation obtenue par un test non paramétrique de Spearman. ....   | 135 |
| Tableau 26. Date de récolte, paramètres technologiques et description sensorielle réalisée par 3 experts des vins modèles de Merlot (M) et de Cabernet Sauvignon (CS) au cours des millésimes 2014 et 2015. ....            | 147 |
| Tableau 27. Description olfactive des fractions obtenues par CLHP à partir des vins de Cabernet Sauvignon (2014) aux deux stades de maturité des raisins (Maturité- et Maturité+). ....                                     | 148 |
| Tableau 28. Notes moyennes obtenues sur l'intensité du descripteur « végétal ». ....  | 150 |
| Tableau 29. Principales zones odorantes (groupe B) déterminées par MDCGP-O-SM/TOF.....  | 153 |
| Tableau 30. Molécules odorantes identifiées dans les fractions 35 et 36 (groupe B) susceptibles d'être associées à l'expression aromatique végétale des vins rouges.....  | 169 |



|   |     |
|---|-----|
| Tableau 31. Concentrations en 1,8-cinéole (moyenne $\pm$ écart-type $\mu\text{g/L}$ ) et en IBMP (moyenne $\pm$ U $\text{ng/L}$ ) dans les vins commerciaux ou expérimentaux.....   | 175 |
| Tableau 32. Vins de l'échantillonnage ayant permis la définition des espaces sensoriels propres aux vins de presse et aux vins de goutte. ....  | 197 |
| Tableau 33. Description des fractions odorantes obtenues par CLHP du vin de goutte et du vin de presse correspondant (Bordeaux DR14, CS).....   | 203 |
| Tableau 34. Caractérisation olfactive des différentes fractions obtenues par la distillation sous vide du vin de goutte et du vin de presse. ....   | 205 |
| Tableau 35. Résultats des tests triangulaires à partir des fractions de vins goutte/presse obtenues par distillation et de leur regroupement. ....  | 205 |
| Tableau 36. Principales zones odorantes végétales (fraction V2) déterminées par CPG-O. ....   | 207 |
| Tableau 37. Principales zones odorantes végétales (fraction Vr) déterminées par CPG-O. ILR, indice linéaire de rétention sur BP20.....  | 211 |
| Tableau 38. Molécules odorantes identifiées dans les fractions V2 et Vr et susceptibles d'être associées au caractère « presse » des vins rouges.....   | 214 |
| Tableau 39. Résultat du test triangulaire obtenu à partir d'une addition de 2,5 $\mu\text{g/L}$ de 6-méthyl-5-hepten-2-one dans le vin rouge (témoin).....  | 216 |
| Tableau 40. Paramètres expérimentés (température d'incubation, temps d'incubation et concentration en pFBHA) lors de l'optimisation des conditions de préparation et d'extraction de l'échantillon (plan d'expérience Box-Behnken). ....  | 221 |
| Tableau 41. Paramètres expérimentés avec un plan factoriel complet pour la précision des conditions d'optimisation analytiques : température d'incubation, concentration en pFBHA, dilution. ....   | 222 |
| Tableau 42. Répétabilité, recouvrement, linéarité, limite de quantification (LOQ) et limite de détection (LOD) de la méthode développée. ....   | 227 |
| Tableau 43. Concentrations en (Z)-1,5-octadien-3-one et (Z)-4-heptenal (moyenne $\pm$ écart-type en $\text{ng/L}$ ) dans plusieurs vins de goutte et vins de presse correspondants. ....  | 228 |
| Tableau 44. Concentrations ( $\text{ng/L}$ ) en alcanals, alkenals, alkadienals dans les vins de goutte (G) et de presse (P) analysés. ....   | 230 |
| Tableau 45. Caractéristiques (description, seuil de détection olfactive de la littérature) des molécules odorantes étudiées en lien avec leur niveau d'abondance dans la catégorie « vins de presse ». ....   | 236 |
| Tableau 46. Concentrations en alcanals, alkenals et alkadienals dans le vin de presse CS_Mat+15(P++) et dans le vin de goutte correspondant CS_Mat+15(G). ....  | 237 |
| Tableau 47. Récapitulatif de la constitution des groupes A, B et C mentionnant la concentration ajoutée et l'OAV (ratio concentration/seuil de détection théorique dans l'eau) pour chacun des composés.....  | 240 |
| Tableau 48. Résultats des tests triangulaires obtenus à partir de l'addition des groupes A, B ou C dans le vin rouge (témoin). ....   | 240 |
| Tableau 49. Résultats des tests triangulaires obtenus à partir de l'addition des groupes A, B ou C dans un vin rouge (témoin) contenant un ou plusieurs autres groupes.....   | 241 |
| Tableau 50. Résultats des tests triangulaires obtenus à partir de l'addition dans le vin rouge (témoin) des composés présents dans le groupe C : (E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal (3N) ; (Z)-1,5-octadien-3-one (O)...                                    | 242 |
| Tableau 51. Résultats des tests triangulaires de l'évaluation orthonasale des modalités de vins Pomerol 15, M. ....   | 258 |
| Tableau 52. Concentration ( $\text{mg/kg}$ de matière fraîche) en 1,8-cinéole, $\alpha$ -thuyone et $\beta$ -thuyone (moyenne $\pm$ écart type ; $n=2$ ) dans les feuilles d' <i>Artemisia verlotiorum</i> (vignoble de Pauillac) et d' <i>Artemisia vulgaris</i> (vignoble de Cognac)..... | 264 |
| Tableau 53. Concentration en 1,8-cinéole (moyenne $\pm$ écart-type en $\mu\text{g/L}$ ) et $\alpha$ -thuyone (moyenne $\pm$ écart-type en $\mu\text{g/L}$ ) dans les vins commerciaux ou expérimentaux ....   | 266 |
| Tableau 54. Principaux descripteurs générés par l'évaluation d'une solution modèle supplémentée par 200 $\mu\text{g/L}$ de salicylate de méthyle (MeSA) ou 25 $\text{ng/L}$ d'IBMP.....   | 274 |
| Tableau 55. Principaux descripteurs générés par l'évaluation d'un vin rouge de Bordeaux supplémentée par 200 $\mu\text{g/L}$ de salicylate de méthyle (MeSA) ou 25 $\text{ng/L}$ d'IBMP.....  | 275 |

## **LISTE DES ABBREVIATIONS**

|            |   |
|------------|---|
| 3-AFC      | 3 – Alternative à choix forcé   |
| ACP        | Analyse en Composantes Principales  |
| AFNOR      | Association Française de normalisation  |
| ANOVA      | Analyse de variance   |
| CLHP       | Chromatographie liquide haute performance   |
| CPG        | Chromatographie en phase gazeuse  |
| CPG-O      | Chromatographie en phase gazeuse – olfactométrie  |
| CPG-SM     | Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse                                     |
| IBMP       | 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine  |
| ILR        | Indice linéaire de rétention  |
| IPMP       | 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine   |
| ISO        | Organisation internationale de normalisation  |
| ISVV       | Institut des Sciences de la Vigne et du Vin   |
| LLE        | Liquid liquid extraction  |
| M          | Maturité  |
| $m/z$      | Rapport masse sur charge des ions   |
| MDCPG      | Chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle  |
| MDCPG-O-SM | Chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle – olfactométrie – spectrométrie de masse |
| O          | Olfactométrie   |
| OAV        | Odor Activity Value   |
| RA         | Reconstitution aromatique   |
| sBMP       | 2-méthoxy-3- <i>sec</i> -butylpyrazine  |
| SIM        | Selected ion monitoring   |
| SPME       | Solid phase micro extraction  |
| TAV        | Titre alcoométrique volumique   |

# **LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS**

## **Publication**

Poitou, X. ; Thibon, C. ; Darriet, P. (*En cours de révision*) 1,8-Cineole In French Red Wines : Evidence For A Contribution Related To Its Various Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

## **Communication orale**

Poitou, X. & Darriet, P. (2016) Sensory definition of green aroma concept in red French wines. Evidence for the contribution of novel volatile markers. Macrowine 2016, HES-SO Changins (Suisse), 27-30 juin 2016.

## **Communication affichée**

Poitou, X. & Darriet, P. (2015). Investigations on the green aromas in French red wines related to the grape ripening. 10ème Symposium International d'Œnologie de Bordeaux (France), 29 juin-1er juillet 2015.

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

Le vin, produit de la vigne, plonge dans l'humanité comme les racines de celles-ci s'enfoncent dans le sol. Depuis la trace des premières vinifications caucasiennes, il y a environ 8000 ans, à celles que nous connaissons aujourd'hui, le vin n'a eu de cesse de se transmettre comme le produit des civilisations : Égyptienne, Grecque, Romaine, Gauloise, etc. L'évolution des techniques de vinification est une longue marche au travers des siècles, faite de mouvements parfois fulgurants et parfois dormants, rythmée par un tissu culturel local et dérivant au gré des transmissions. Le vin rouge, tel que nous le connaissons aujourd'hui avec sa spécificité et sa diversité émane de cette longue histoire. Longtemps, il fut baigné d'un savoir empirique qui permettait de tirer de l'observation la meilleure partie du hasard. Au début du 17<sup>e</sup> siècle, cet empirisme s'est affiné en empruntant les voies de l'expérimentation ; c'est le célèbre *Théâtre d'agriculture et mesnage des champs* d'Olivier de Serres (1600). À partir de là, l'histoire de l'œnologie s'accélère et se jalonne par des œuvres fondamentales à son développement qui sont, selon Emile Peynaud (*le Vin et les jours*, 1988) : *L'art de faire le vin* de Chaptal (1800) ; *Etude sur le vin* de Pasteur (1866) ; *Traité d'œnologie* de Jean Ribéreau Gayon (1947) et ses rééditions successives par l'école bordelaise. Dès lors l'œnologie est devenue une science reconnue, enseignée, et porteuse d'une connaissance étendue sur la physiologie de la vigne, la biochimie du raisin, la microbiologie des fermentations, la composition des vins, la définition des équilibres sensoriels, etc. La connaissance de l'odeur des vins, par la caractérisation des composés chimiques qui en sont responsables, est initiée dès 1956 par Robert Cordonnier (École nationale supérieure d'agronomie de Montpellier) sur l'étude des terpènes, puis illustrée dans les années 90 par les travaux de l'équipe bordelaise de Denis Dubourdieu sur les arômes variétaux du Sauvignon blanc. Depuis, un grand nombre de recherches n'ont eu de cesse d'apporter des éléments nouveaux de compréhension tout en révélant, dans un même temps, la prodigieuse complexité dont fait preuve l'arôme du vin. On estime à plus de 800 le nombre de composés volatils, dont au moins une centaine de composés odorants (Maarse *et al.* 1989). Cet axe de recherche, dans lequel nous inscrivons nos travaux, reste donc, à ce jour, une thématique de choix vers une meilleure maîtrise de la qualité et de « l'art de vinifier ».

Le terme « végétal » fait partie intégrante du lexique de la dégustation et de sa terminologie ; c'est un attribut sensoriel très largement usité en œnologie pour décrire l'arôme des vins. Traditionnellement, en Europe, ce terme à un usage plutôt péjoratif puisqu'il renvoie – le plus souvent – à des vins rouges obtenus à partir de raisins de faible maturité, notamment

de la famille des Carmenets, dont l'odeur associée à la présence de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines évoque celle du poivron vert.

Cependant, la question de la composante végétale des vins constitue un vaste sujet dans le champ des descripteurs, couvrant plusieurs nuances et intégrant des aspects technologiques de l'œnologie – ayant trait au stade de maturité des raisins, aux modalités de vinification, à l'état sanitaire de la vendange, etc.–, ainsi que des aspects sensoriels autour de dimensions perceptives et cognitives.

Nous pensons que cette famille constitue l'une des portes d'entrée vers la compréhension des équilibres qui gouvernent l'expression aromatique des vins rouges. En effet, elle est souvent située en opposition à la composante fruitée. Aussi, sa dimension hédonique est rarement appréhendée dans sa diversité, alors que certaines notes fraîches qui la constituent, telles les nuances « menthées, mentholées » par exemple, contribuent à l'identité aromatique de vins réputés (Peynaud, 1981 ; Picard et al., 2015a).

Notre étude avait donc pour objectif d'approcher cette notion sensorielle par une considération plus large de ses tonalités et de ses origines. Intégrant des aspects sensoriels et analytiques, elle devait permettre d'identifier de nouveaux déterminants moléculaires, contributeurs aux nuances spécifiques de cette famille d'odeur. Aussi, ces travaux visaient à soutenir les professionnels de la filière par leurs implications viticoles et œnologiques.

Le point de départ de notre démarche, développé dans la première partie de ce manuscrit, s'est concrétisé autour de la définition, dans le champ des descripteurs, des réalités olfactives recouvertes par le terme « végétal ».

Par ailleurs, une confrontation des observations sensorielles avec les données analytiques de molécules odorantes connues a permis d'étudier leur niveau de corrélation. Fort de ces premiers résultats, un travail de caractérisation de composé « clefs » a reposé sur une combinaison d'approches sensorielles et analytiques, notamment par l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle couplée à l'olfactométrie (MDCPG-O-SM), mais aussi par l'analyse des propriétés psychophysiques des composés identifiés.

En outre, notre démarche a laissé une place prépondérante à la compréhension de l'origine des molécules. C'est la raison pour laquelle ce manuscrit a été articulé autour des diverses origines considérées ou mises en lumière. L'une des origines connues de ces nuances, la maturité des raisins, a d'abord été reconsidérée et détaillée au cours de la seconde partie du manuscrit ; de même qu'une autre moins caractérisée, constituant la troisième partie de l'étude :

le pressurage des marcs. De plus, de nouvelles origines responsables de certaines expressions végétales se sont révélées au fur et à mesure de l'avancement de notre étude ; elles ont été précisées dans la dernière partie de celle-ci.

Aussi, au cours de ce travail, une approche holistique, qui naît de la perception d'une nuance et s'étire, par l'étude des molécules, de leur impact sensoriel et de leur origine, jusqu'à la considération de certains facteurs technologiques, a été employée.

Finalement, au travers de l'angle d'approche qu'elle s'était fixée autour de cette famille aromatique du « végétal », ce projet de recherche avait pour vocation de contribuer à l'avancement de la connaissance de l'arôme des vins rouges, tout en étant en mesure de proposer des considérations nouvelles quant à l'origine de certaines odeurs, mais également des moyens d'action technologiques assurant leur modulation.

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**



# 1. LES AROMES VEGETAUX/VERTS

## 1.1. Généralités

*Un végétal est un « être vivant généralement chlorophyllien et fixé au sol, doué d'une sensibilité et d'une mobilité extrêmement discrètes, capable de se nourrir principalement ou exclusivement de sels minéraux et de gaz carbonique, et dont les cellules sont habituellement limitées par des membranes squelettiques de nature cellulosique. »* ; telle est la définition fournie par le dictionnaire Larousse. Ce terme, emprunt au latin médiéval *vegetalis* « qui croît », et au latin tardif *vegetare* qui signifie également « croître », se rapporte bien à la description d'un organisme vivant, arbre ou plante, par opposition à minéral. Lorsqu'il est employé sous une forme adjectivale, ce mot fait aussi référence à « *ce qui appartient ou qui a rapport aux végétaux* » (Dictionnaire de l'Académie française, 9<sup>e</sup> édition).

Si l'on se tenait à la stricte définition de ce terme, tous les arômes, et même plus généralement toutes les odeurs qui trouvent leur origine dans le règne végétal pourraient être qualifiées de « végétales ». Le champ des nuances aromatiques couvert par ce terme deviendrait alors extrêmement vaste, y incluant le parfum des fleurs, des fruits, les diverses essences d'arbres et de plantes.

Celui-ci n'est pourtant pas aussi générique qu'il le prétend puisqu'il permet, par un emploi étendu et quelque peu détourné du sens premier, la qualification de nuances aromatiques très particulières qu'expriment un certain nombre de produits, et notamment le vin. L'usage de vocables spécifiques obtenus à partir d'un mot commun dont le sémantisme original a été modifié pour rejoindre un lexique de dégustation se résume très bien ainsi : « *Vous pouvez parler du vin comme s'il était un bouquet de fleurs (parfumé, fortement parfumé) ; un paquet de lames de rasoir (métallique) ; un militaire (robuste, puissant) ; une troupe d'acrobates (élégant, bien équilibré) ; un gros industriel (distingué, riche) ; une vierge dans un lupanar (immature, promettant des plaisirs à venir) ; la plage de Brighton (propre et caillouteux) ; et même une pomme de terre (terreux) ou un gâteau de Noël (gras, sucré, rond).* » (Derek Cooper, The Fireside Book of Wine)

L'équivalent anglais le plus couramment rencontré du terme « végétal » est l'adjectif « green » (vert). Au-delà de la définition même de couleur, ce terme, peu usité dans la langue

française pour la description des odeurs, fait référence à « *ce qui est encore loin de la maturité* » (Dictionnaire Larousse) ou à « *des végétaux qui ont encore de la sève, qui ne sont pas secs* ». À l'inverse de l'adjectif « végétal », le terme « vert » est finalement assez restrictif puisqu'il fait directement référence à une origine donnée.

Appliquée au champ des odeurs, cette caractéristique aromatique « verte » est couramment utilisée dans la littérature anglaise pour la description des fruits et des légumes (Hui *et al.*, 2010). C'est par exemple le cas de l'arôme de tomate (Baldwin *et al.*, 2004), de l'abricot (Feng *et al.*, 2015) ou de la fraise (Ikeura *et al.*, 2009 ; Ubeda *et al.*, 2012). Cette nuance assure aussi la distinction de différent type de cafés (Scholz *et al.*, 2013), de tabacs (Xia *et al.*, 2015), de thés (Erasmus *et al.*, 2016). On la retrouve même dans le lexique de dégustation de certains produits alimentaires comme le miel (Galán-Soldevilla *et al.* 2005), mais aussi dans le parfum (Retiveau *et al.* 2004) et le whisky (Wanikawa , 2001).

La récurrence d'utilisation du terme « vert » a conduit certains auteurs anglosaxons (Hongsoongnorn & Chambers, 2007) à en préciser le champ lexical. La composante « verte » est ainsi décrite comme la synthèse de multiples attributs sensoriels, le plus souvent associés à des matériaux d'origine végétale. Ces auteurs mentionnent l'existence de 5 sous-catégories : « vert/sous-maturité », « vert/cosse de pois », « vert/herbeux-feuillu », « vert/viney » et « vert/fruité ».

La première, « vert/sous-maturité », s'associe naturellement à la définition du terme « vert » puisqu'elle fait directement référence aux caractéristiques aromatiques de plusieurs fruits insuffisamment mûrs. La seconde, « vert/cosse de pois », évoque les attributs sensoriels des haricots verts, des brocolis, des asperges et des produits du soja. La troisième, « vert/herbeux-feuillu », se réfère aux nuances retrouvées dans l'herbe fraîchement coupée et dans certaines plantes aromatiques comme le basilic, le persil frais, la feuille de coriandre, mais aussi les épinards et le thé vert. Un autre type de vert, qui est nommé « viney » par les auteurs, évoque les odeurs des légumes verts comme la tomate fraîche, le concombre, mais aussi la feuille de vigne ainsi que la rafle. Il est caractéristique de l'odeur du 2-isobutylthiazole, lui-même apparenté à l'odeur de tomate verte avec des tonalités vineuses et fraîches (Selli *et al.*, 2014 ; Piombino *et al.*, 2013). Enfin, la catégorie « vert/fruité » renvoie à l'odeur de certains fruits et produits dérivés du fruit, tels que la poire ou le jus de pomme.

De plus, ces mêmes auteurs ajoutent que la majorité des composés aromatiques portant ces différentes odeurs « vertes » expriment aussi des nuances de type « champignon/terreux ».

Selon eux, il n'est donc pas rare de retrouver ces deux tonalités associées au sein d'un même produit. Ce point sera abordé ultérieurement (§ 1.2.1).

Il est intéressant de relever que d'autres auteurs (Hatanaka *et al.*, 1996) avaient, eux aussi, préalablement tenté de préciser le terme « vert » et étaient arrivés, de la même manière, à la génération de 5 sous-catégories assez similaires, à savoir « vert/feuillu », « vert/herbeux », « vert/insecte », « vert/légume » et « vert/fruité ».

Au regard de ces travaux, il apparaît donc que le terme « vert », très souvent appliqué à la description des odeurs et à la caractérisation de produits, n'évoque pas un attribut précis, mais constitue une catégorie d'arômes regroupant des éléments sensoriels aux caractéristiques communes. Dès lors, si le cœur garde une certaine constance, les contours de la classification ne peuvent qu'être ajustables et soumis à la libre appréciation d'un groupe de dégustateurs, considérant les caractéristiques et la variabilité aromatique d'un produit donné.

Lorsqu'il est appliqué à la description d'un vin, le qualificatif « vert » vise plutôt à traduire, paradoxalement, un équilibre gustatif global porté vers l'acidité puisque, selon Peynaud & Blouin (2006), il s'associe aux termes « maigre », « sec » et « acide ». Ceci ramène à l'idée d'un défaut de maturité des raisins à partir desquels le vin est obtenu. Si nous tentions alors d'appliquer la notion de « vert » à la description des odeurs en généralisant l'expression aromatique des cépages, elle serait apte à décrire les nuances spécifiques d'un vin issu de raisins insuffisamment mûrs. Cependant, par une extension de langage qui se joint aussi à la définition de fruit pas encore mûr, les dégustateurs qualifient souvent un vin jeune, qui doit davantage vieillir pour trouver sa pleine expression aromatique, de « vin vert » (Lehrer, 2009). Cette dénomination appartient aussi à un type de vin produit dans le nord du Portugal, le *Vinho Verde* ou « vin vert ». Bien que l'origine de cette association puisse être imputable aux nombreux reflets verdâtres qui ornent souvent la robe de ses vins blancs, l'existence de *Vinho Verde* rouges suggère que le terme « vert » fait plutôt référence à la précocité des vendanges de cette région, et donc à la faible maturité des raisins dont le mode de conduite en Pergola limite l'exposition des grappes au soleil. De même, ces « vins verts » trouvent leur expression dans la prime jeunesse, autour de la fraîcheur, et se destinent exclusivement à être consommés comme tel. Autant dire la confusion manifeste qui apparaît dans l'application du terme à la description de l'odeur du vin.

## 1.2. Les nuances aromatiques végétales/vertes dans les vins

### 1.2.1. Définition

L'usage du descripteur « végétal » lors de la dégustation des vins est commun et largement répandu, aussi bien sur les vins blancs que sur les vins rouges. En ce sens, il fait partie intégrante du lexique de la dégustation (Lehrer, 2009), en y définissant l'une des catégories principales. Perrin (2008) confirme l'utilisation de ce terme par les experts puisqu'il constitue l'un des descripteurs les plus générés lors de l'évaluation des vins rouges par des méthodes de profils libres (PL) ou de profils ultra flash (PUF).

Un expert est défini par Nicod *et al.* (2006), comme « *une personne qui, se confrontant très régulièrement au même univers produit, a développé des images sensorielles propres aux différents produits de son univers et utilise ensuite ces connaissances pour déguster et prendre des décisions liées au produit* ». Dans le cas du vin, l'expert se caractérise « *par sa connaissance des vins, connaissance acquise à la suite de nombreuses dégustations, et par sa capacité à décrire des vins* » (Chollet *et al.*, 2000). Ajoutons que cet expert doit, selon Peynaud & Blouin (2006), être en mesure « *de posséder un vocabulaire gustatif suffisamment étendu et précis pour exprimer ses perceptions et motiver son jugement* ».

Cependant, bien qu'il soit très largement utilisé comme objet de discrimination par les experts, l'emploi du terme « végétal » ne fait cependant pas toujours le consensus (Salomon, 1990 ; Perrin, 2008). La différence dans la perception interindividuelle pourrait en être la cause, notamment lorsqu'elle s'allie à la complexité de ce caractère « végétal » qui peut couvrir plusieurs nuances aromatiques. Ainsi, selon Peynaud & Blouin (2006), le descripteur végétal est « *souvent liée à des raisins mal mûris, aux caractères herbacés, de foin frais évoluant souvent vers le foin sec, l'infusion fanée* ».

Les travaux de Noble *et al.* (1987) qui ont conduit à regrouper les principales nuances aromatiques perçues lors de la dégustation des vins en les classant en famille et sous-famille, montrent que cette composante apparaît bien plus étendue encore (**Figure 1**).

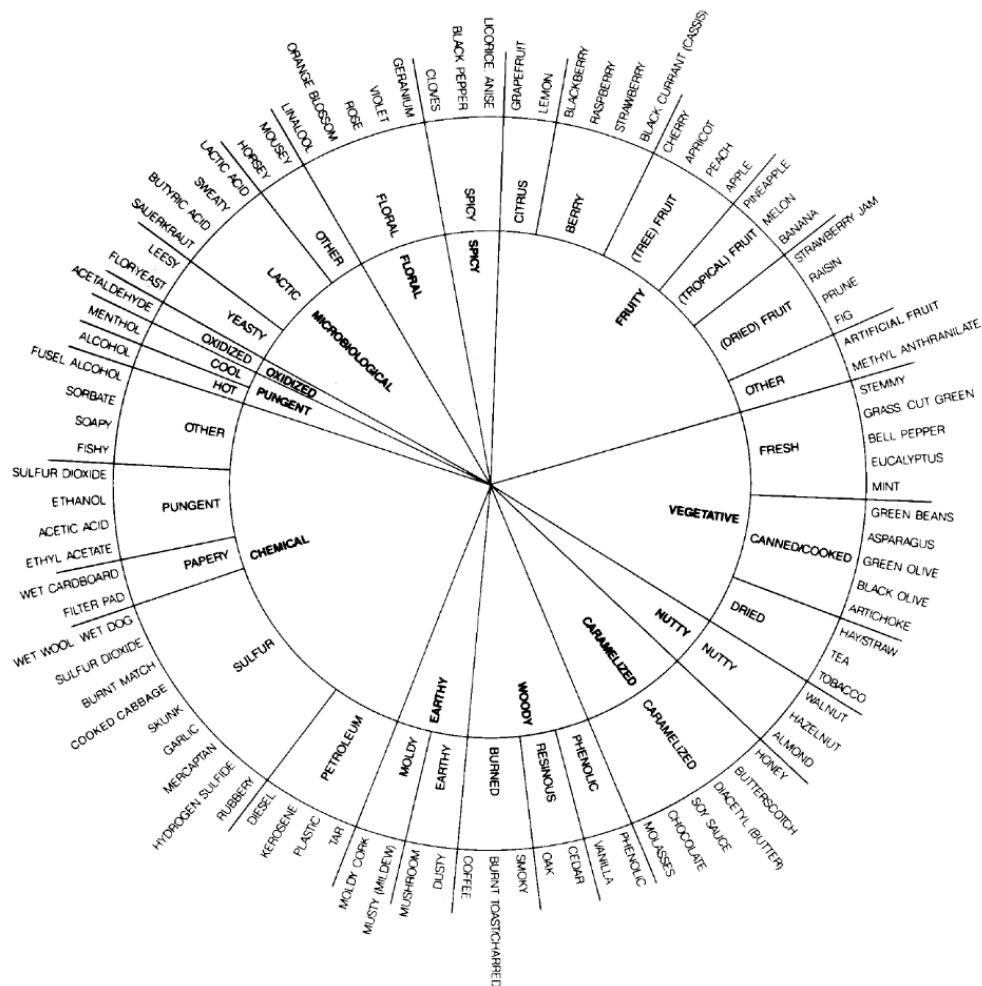


Figure 1. Roue des arômes du vin classé en famille et sous-famille (Noble *et al.*, 1987).

En effet, dans ce classement, la famille « végétale » apparaît comme la troisième plus importante en nombre de descripteurs, après les familles « chimique » et « fruité ». La famille « végétale » a été découpée par ces auteurs en trois sous-familles : végétal frais, végétal cuit et végétal sec. La sous famille « végétal frais » regroupe les arômes de tige, d'herbe coupée et de poivron tout y associant celles, plus fraîches, d'eucalyptus et de menthe. La sous-famille « végétal cuit » rassemble les descripteurs haricots verts, de l'asperge, de l'olive verte et noire et de l'artichaut. Enfin, la sous famille « végétal sec » contient les nuances de thé, de tabac et de foin.

Allen (2007) a complété cette classification en y intégrant, en plus des descripteurs « végétal frais » et « herbe coupée » déjà mentionnés, des nuances végétales et fruitées qu'il nomme « fruité vert » et qui correspondent, selon lui, à des arômes de « pomme verte », de « kiwi », et même parfois de « fruit de la passion ». Il ajoute aussi, de manière surprenante, les

odeurs de type « moisi » et « terreux » proche de l'humus et qui, selon Noble *et al.* (1987), constituent une catégorie « terreuse » bien distincte de celle du « végétal ». Allen explique, cependant, qu'il est difficile de placer une barrière stricte entre ces odeurs tout en précisant que certaines de ces nuances peuvent revêtir une connotation agréable, par exemple dans le cas des vins blancs de Sauvignon. C'est le fameux végétal « noble » qu'énonce Denis Dubourdieu et qui évoque « *la menthe et la fougère* » et confère « *une complexité qui dépasse le fruit* » (Berdin & Dubourdieu, 2012). En revanche, Allen spécifie que l'appréciabilité de ce caractère ne dépend pas que de l'arôme en lui-même, mais surtout du contexte dans lequel il est perçu et jugé. Il précise ainsi que ces odeurs, lorsqu'elles sont présentes dans les vins rouges, correspondent à des défauts puisqu'étant souvent le signe d'un manque de maturité des raisins à la récolte. Bindon *et al.* (2013) appuient cette analyse par la mise en évidence d'une association, par le consommateur, des nuances de « vert frais » associées aux descripteurs « feuille de tomate, poivron vert, herbe, feuille » avec l'acidité des vins et le défaut de maturité des raisins ; de plus, ces vins tendent à être rejetés par les consommateurs. Toutefois, Lattey *et al.* (2010) apportent un éclairage différent en montrant que, dans les vins rouges australiens, un certain type de notes végétales peuvent être appréciées par des groupes de consommateurs, et notamment les nuances « menthées/mentholées » appartenant à la sous-famille « vert frais ».

### **1.2.2. L'impact des nuances « végétales » dans la perception fruitée des vins rouges**

La qualité des vins, et peut-être plus encore celle des vins rouges, reste étroitement mêlée à une complexité aromatique qui s'articule principalement autour des arômes fruités. Si l'on prend l'exemple des vins rouges de Bordeaux, le bouquet d'un Bordeaux classique dominé par le Merlot peut se définir ainsi : « *fraîcheur et complexité avec des arômes de fruits noirs, de mûre, de cerise à l'eau-de-vie, des notes de chocolat noir, de cigare havane avec, en même temps, un peu d'épices, de pivoine et de rose* » ; s'agissant des grands vins de Cabernet-Sauvignon issus des plus beaux terroirs de graves, ils expriment « *des nuances de réglisse, de bois de cèdre, de cacao, des notes de mûres, d'airelles, de cerise, de fraise des bois [...] la cheminée froide, le bois brûlé, étrangement mêlé à des odeurs de rose* » (Berdin & Dubourdieu, 2012).

De plus, un certain nombre d'études sur la filiation entre les attributs sensoriels des vins rouges et l'acceptation par le consommateur affirment que les arômes liés aux fruits sont

positivement corrélés à cette préférence (Frost & Noble, 2002 ; Malherbe *et al.*, 2013) avec, dans le cas des vins rouges australiens, un jugement très favorable vis-à-vis des notes de confiserie, de fruits rouges, de cassis et de fruit noirs (Lattey *et al.*, 2010), de fruits noirs encore, de la vanille et de la saveur du fruit en générale (Bindon *et al.*, 2013).

Si l'on s'interroge sur la relation qu'entretiennent entre-elles les nuances fruitées et végétales dans les vins rouges, on voit souvent apparaître une dichotomie bien marquée et observée depuis longtemps et ce, quelque soit le cépage : Cabernet-Sauvignon (Heymann *et al.*, 1987), Pinot Noir (Guinard & Cliff, 1987 ; Reynolds *et al.*, 1996) ou Zinfandel (Noble & Schannon, 1987).

D'autres auteurs (Hein *et al.*, 2009) utilisant l'Analyse en Composantes Principales (ACP), ont fait ressortir ce lien d'opposition entre les nuances « végétales » et « fruitées ». Il est intéressant de relever que cette étude a porté sur deux nuances particulières du descripteur végétal, le végétal de type « poivron vert », mais aussi un végétal plus frais de type « menthe » et « eucalyptus ». Seule la première de ces nuances impacte de manière négative le fruité. De plus, les mêmes auteurs apportent des éléments de réponse à ce phénomène en démontrant un effet de masquage de la perception végétale par la composante fruitée. En effet, ils remarquent que l'ajout d'extraits de fruits rouges dans un vin marqué par des odeurs de poivron diminue la perception olfactive de celles-ci. Ils concluent sur le fait que le caractère aromatique global du vin rouge soit sous la dépendance des notes végétales de type « poivron vert ». En d'autres termes, ce seraient ces nuances qui, par leur action sur l'équilibre des odeurs, gouverneraient l'expression aromatique globale des vins rouges. Suivant cette même idée partagée dans le « nouveau monde » vinicole, Robinson *et al.* (2011a) montrent que deux grands styles prédominent au sein des vins australiens de Cabernet Sauvignon, ceux répondant au type « fruité » et ceux répondant au type « végétal/herbacé ».

Enfin, Preston *et al.* (2008) mettent aussi en évidence l'existence d'un contraste fruité/végétal dans les vins de Cabernet Sauvignon américains, en regroupant dans la dernière catégorie les arômes d'eucalyptus, de poivre, de poivron, d'olive et de légumes cuits. Une fois encore, si les nuances de poivre, de poivron, d'olive et de légumes cuits apparaissent s'opposer directement à celles du fruit (cerise, fruits secs, vanille), les odeurs d'eucalyptus semblent se démarquer de celles-ci, mais sans contraste direct. Ceci rejoint donc l'idée selon laquelle il peut exister des tonalités aromatiques « végétales » considérées positivement – nommément dans un qualificatif « végétal frais ». Celles-ci ne causent pas préjudice au caractère fruité des



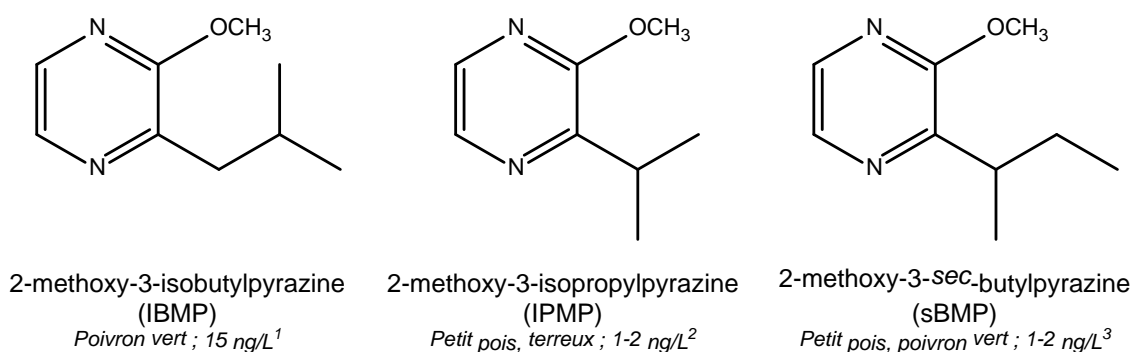
vins mais tendent plutôt à renforcer la complexité de leur bouquet, notamment en lui conférant fraîcheur et élégance.

### 1.3. Les composés contribuant aux nuances aromatiques « végétales » des vins rouges

#### 1.3.1. Les méthoxypyrazines

Les pyrazines (ou 1,4-diazines) sont des hétérocycles azotés de formule brute  $C_4H_4N_2$  retrouvées dans la nature, aussi bien dans le règne végétal qu'animal (Maga *et al.*, 1992). Une partie d'entre elles, les alkylpyrazines, sont présentes dans un grand nombre d'aliments où elles dérivent de la réaction de Maillard lors de procédés de torréfaction (cacao et café), de grillage (noisettes et amandes) ou de cuisson (viande). Leurs odeurs appartiennent majoritairement aux registres « grillé », « viandé », « noisette », « pop-corn » ou « terreux » (Maga *et al.*, 1973 ; 1992).

Une autre catégorie, les méthoxypyrazines, naturellement présentes dans les végétaux, dérivent du métabolisme des acides aminés. Les trois principales de cette famille sont la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP), la 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP) et la 2-méthoxy-3-*sec*-butylpyrazine (sBMP). (**Figure 2**)



**Figure 2. Structures chimiques de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP), de la 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP) et de la 2-méthoxy-3-*sec*-butylpyrazine (sBMP).** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive dans le vin rouge (Roujou de Boubée *et al.*, 2000) ; <sup>2-3</sup> Seuil de détection olfactive dans l'eau (Murray *et al.*, 1970 ; Seifert *et al.*, 1970).



La 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP) a été mise en évidence pour la première fois dans le poivron vert (*Capsicum annum* var. *grossum*) par Buttery *et al.* (1969). Ces mêmes auteurs estiment son seuil de détection olfactive dans l'eau à 2 ng/L, soit un seuil extrêmement bas qui, joint à la similarité de l'odeur, fait de ce composé le responsable de l'odeur du poivron vert frais. Cette molécule est également retrouvée dans nombre d'autres légumes tels que le piment (*Capsicum frutescens*), le petit pois (*Phaseolus vulgaris*), la fève (*Vicia faba*), la betterave (*Beta vulgaris*), la laitue (*Lactuca sativa*), l'épinard (*Spinacea oleracea*), etc. (Murray *et al.*, 1975 ; Hui *et al.*, 2010).

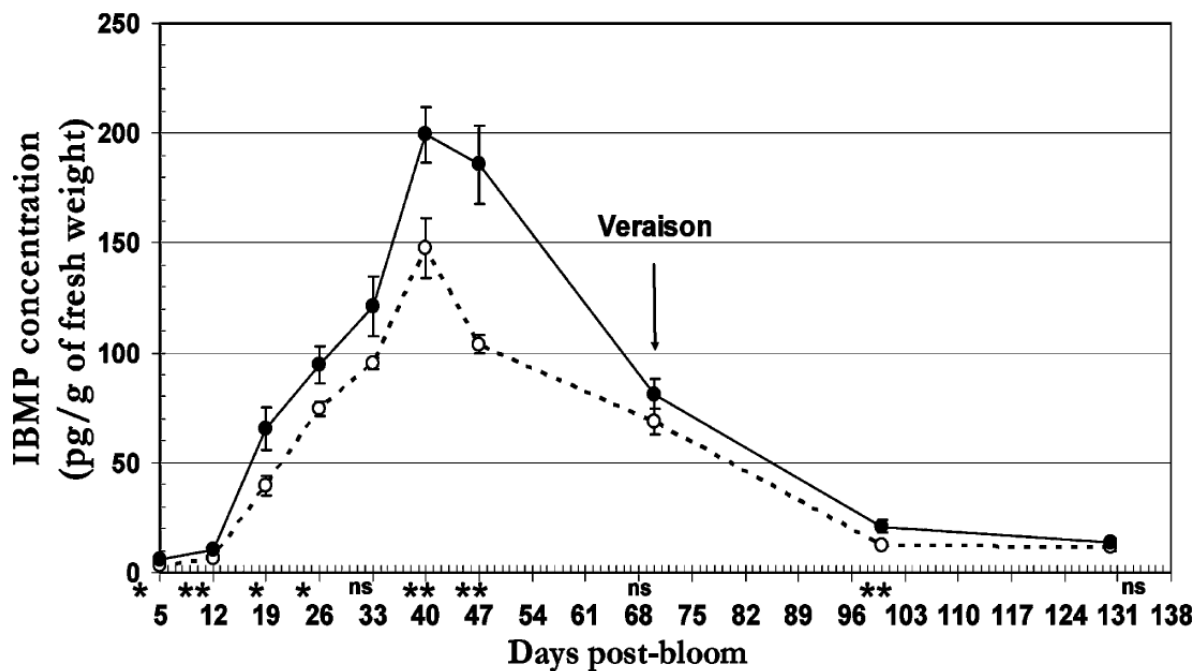
La première identification dans le raisin de Cabernet-Sauvignon a été réalisée par Bayonove *et al.* (1975). Son seuil de détection olfactive extrêmement bas dans le vin rouge, de l'ordre de 15 ng/L dans un vin de Bordeaux (Roujou de Boubée *et al.*, 2000) en fait l'un des contributeurs majeurs de l'arôme végétal de poivron vert pouvant être perçu dans les vins rouges issus de différents cépages, en particulier ceux appartenant de la famille des Carmenets tel que le Cabernet Sauvignon (Allen *et al.*, 1990 ; 1994), le Cabernet franc (Roujou de Boubée *et al.*, 2000), le Merlot (Sala *et al.*, 2000) et la Carmenère (Belancic *et al.*, 2007). Les niveaux de concentrations retrouvés dans les vins de Merlot restent généralement plus bas que dans ceux des autres cépages étudiés (Roujou de Boubée *et al.*, 2000).

Au-delà du facteur variétal, la concentration finale de ce composé dans le raisin est sous la dépendance de plusieurs facteurs cultureux et environnementaux (Lacey *et al.*, 1991 ; Allen *et al.*, 1996 ; Kotseridis *et al.*, 1999 ; Roujou de Boubée, 2000). Un certain nombre d'études ont ainsi cherché à préciser les niveaux d'abondance de ce composé dans les raisins et les vins en étudiant, par exemple, les effets spécifiques de l'irrigation (Sala *et al.*, 2005 ; Mendez-Costabel *et al.*, 2014), de la densité de plantation (Sala *et al.*, 2005), de la lumière (Hashizume & Samuta, 1999 ; Ryona *et al.*, 2008 ; Koch *et al.*, 2012), de la température (Falcao *et al.*, 2007 ; Koch *et al.*, 2012), du rendement (Chapman *et al.*, 2004) ou de la nutrition azotée (Mendez-Costabel *et al.*, 2014 ; Helwi *et al.*, 2015).

De l'ensemble de ces travaux, il ressort que la concentration en IBMP dans les raisins à la récolte dépendra de l'action croisée des facteurs considérés préalablement (Scheiner *et al.*, 2012) même si, de manière générale, elles restent largement associées à des rendements excessifs et des microclimats peu favorables à la maturation des grappes : pas d'exposition des baies au soleil et basses températures. Une vigueur excessive de la vigne, qui peut être engendrée par une disponibilité importante en eau du sol, (Van Leeuwen, 1991) ou une forte alimentation azotée (Spayd *et al.*, 1993) peuvent aussi favoriser des concentrations importantes

d'IBMP dans les grappes, encore que ce dernier point ait été récemment reconsidéré (Helwi *et al.* 2016).

D'une manière générale, d'importantes teneurs en IBMP à la récolte sont le plus souvent associées à un défaut de maturité des raisins (Roujou de Boubée *et al.*, 2000), mais parfois aussi à un blocage de maturité (communication personnelle). En effet, les teneurs de ce composé dans les raisins, après avoir atteint un pic d'accumulation entre les stades « fermeture de grappe » et « véraison » selon les conditions physiologiques de la vigne et les paramètres évoqués préalablement, vont décroître de manière significative (**Figure 3**). Dans ce phénomène, la première phase (accumulation) apparaît comme la période déterminante des concentrations finales retrouvées dans les baies. Il existe, en effet, un excellent niveau de corrélation entre les concentrations en IBMP dans le raisin 2 semaines avant la véraison (pic d'accumulation) et les concentrations à la vendange (Ryona *et al.*, 2008).

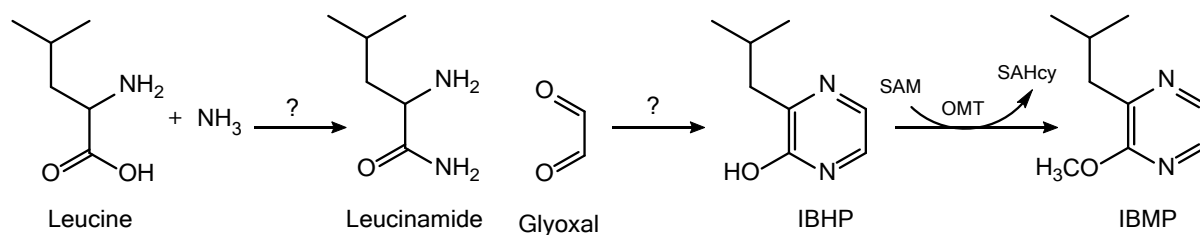


**Figure 3.** Évolution de la teneur en IBMP (exprimée pg/baie) des raisins de Cabernet franc (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet franc) à l'ombre (●—) ou exposés à la lumière (○- -) en fonction du nombre de jours après floraison. Différences significatives (test de Student) : ns, non significatif ; \*,  $p < 0,08$  ; \*\*  $p < 0,05$  (Ryona *et al.*, 2008).

Par ailleurs, la correspondance entre l'évolution des concentrations de ce composé et celle de l'acide malique dans les raisins en cours de maturation, souvent observée, ont conduit à formuler l'hypothèse d'une dynamique similaire d'évolution (Lacey *et al.*, 1991 ; Roujou *et al.*,

2000 ; Bogart & Bisson, 2006). Toutefois, Ryona *et al.* (2008) montrent clairement une différence dans le fait que, si les cinétiques d'évolution des deux composés présentent des similitudes avec phase d'accumulation et phase de dégradation, elles ne sont pas, d'une part, impactées de la même manière par l'exposition à la lumière des raisins et, d'autre part, les dynamiques d'évolution sont différentes : la dégradation de l'acide malique dans la baie étant généralement plus précoce que celle de l'IBMP. Ainsi, il convient de relativiser la filiation entre les teneurs en acide malique (considéré comme un marqueur de maturité) et celle de l'IBMP. Par exemple, au cours d'un millésime avec une période de prévéraison chaude et ensoleillée et une période de maturation froide et nuageuse les niveaux de concentration en IBMP seront susceptibles d'être relativement bas au regard de ceux de l'acide malique.

À ce jour, de nombreuses étapes de la voie de biosynthèse de l'IBMP dans le raisin restent à élucider. Toutefois, Hashizume *et al.* (2001) ont proposé une voie de biosynthèse dérivant de la leucine et dont la dernière étape résulte de la transformation de la 2-hydroxy-3-isobutylpyrazine (IBHP) en IBMP sous l'action de O-méthyltransferases (OMT). Il apparaît que l'activité de ces enzymes est un facteur prépondérant qui détermine les niveaux d'accumulation des méthoxypyrazines dans la baie (Hashizume *et al.*, 2001 ; Dunlevy *et al.*, 2010). À ce jour, quatre gènes codants pour ces enzymes ont été identifiés dans les baies de Cabernet-Sauvignon : *VvOMT1*, *VvOMT2* (Dunlevy *et al.*, 2010), *VvOMT3* et *VvOMT4* (Guillaumie *et al.*, 2013 ; Dunlevy *et al.*, 2013). Les gènes *VvOMT3* et *VvOMT4* sont ceux qui codent pour des enzymes possédant la plus grande affinité pour la 2-hydroxy-3-isobutylpyrazine. Leur expression est maximale (forte activité transcriptionnelle) durant la phase d'accumulation de l'IBMP dans le raisin (au cours des 4 à 8 semaines après floraison) puis décline par la suite, ce qui suggère que l'expression de ces gènes est déterminante sur les niveaux d'accumulation de l'IBMP dans le raisin (Guillaumie *et al.*, 2013 ; Dunlevy *et al.*, 2013). En outre, l'expression des gènes *VvOMT1*, *VvOMT2* n'est pas bien corrélée avec les profils d'accumulation d'IBMP dans la baie. Par ailleurs, Helwi *et al.*, (2015) ont établi que l'expression des gènes *VvOMT3* et *VvOMT4* n'était pas modifiée par un surplus de nutrition azotée de la vigne (en conditions d'absence de contraintes hydriques). L'effet parfois observé de l'azote sur les concentrations en IBMP est donc, dans ces conditions expérimentales précises associé à un effet indirect, probablement imputable à la modification du microclimat de la zone des grappes induite par une plus grande vigueur de la vigne.



**Figure 4. Voie de biosynthèse hypothétique de l'IBMP dans le raisin adapté de Hashizume *et al.*, 2001 (Guillaumie *et al.*, 2013).** IBHP, 3-isobutyl-2-hydroxypyrazine ; OMT, O-methyltransferase ; SAHcy, S-adenosyl-L-homo-Cys ; SAM, S-adenosyl-L-méthionine.

Les autres méthoxypyrazines identifiées dans les raisins et dans les vins avec des récurrences beaucoup plus faibles sont la 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP) et la 2-méthoxy-3-*sec*-butylpyrazine (sBMP) (**Figure 2**) ; mais aussi la 3-méthoxy-2,5-diméthylpyrazine (DMMP), la 2-méthoxy-3,5-diméthylpyrazine (MDMP) et la 2-méthoxy-3-éthylpyrazine (ETMP) (**Figure 5**).

Tout comme l'IBMP, les deux premières méthoxypyrazines sont aussi retrouvés dans certains légumes avec des prédominances pour chacune : l'asperge (*Asparagus officinalis*), le pois (*Pisum sativum*), le concombre (*Cucumis sativus*), la laitue, la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) pour l'IPMP ou la betterave (*Beta vulgaris* L.), la carotte (*Daucus carota sativa*), le persil (*Petroselinum crispum*) et le panais (*Pastinaca sativa*) pour la sBMP (Murray *et al.*, 1975 ; Maarse, 1991 ; Masanetz et Grosch, 1998). Ces composés, dont l'odeur végétale est proche de celle de l'IBMP, avec un caractère plus « terreux » pour l'IPMP, présentent également un fort pouvoir odorant. En effet, Seifert (1970) estime le seuil de détection olfactive de l'IPMP dans l'eau se situe au même niveau que celui de l'IBMP, soit proche du ng/L. Cette valeur est partagée par Maga (1989) pour les vins rouges et atteint même 0,93 ng/L dans les jus de Niagara et de Concord (Pickering *et al.*, 2008). Il en est de même pour le sBMP dont le seuil de détection olfactive dans l'eau est estimé à 1 ng/L (Murray *et al.*, 1970).

L'IPMP identifiée dans les vins par Harris *et al.* (1987) et Lacey *et al.* (1991), a fait l'objet d'études dans les vins blancs de Sauvignon (Allen *et al.*, 1990) ainsi que dans les vins rouges de la région bordelaise (Allen *et al.*, 1995). Ces recherches ont mis en lumière des niveaux de concentration plus faibles que ceux de l'IBMP. Allen *et al.* (1995) ne détectent qu'un seul vin rouge de Bordeaux avec une teneur proportionnellement relativement importante (9,7 ng/L), la majorité des autres vins n'en possédant pas plus de 0,5 ng/L. Ces auteurs formulent donc l'hypothèse d'une autre origine, extérieure à celle du processus normal de vinification ou du raisin lui-même. Récemment, Gracia-Moreno *et al.* (2011), considérant l'analyse des teneurs

en IPMP de 71 vins rouges espagnols, ont montré que 61 % des vins étaient inférieurs à la limite de détection de la méthode (0,4 ng/L) et que seulement cinq d'entre eux dépassaient 2 ng/L. Ainsi, la synthèse de l'IPMP dans le raisin à partir de la valine et selon la voie de biosynthèse décrite précédemment pour l'IBMP (**Figure 4**), bien que suggérée par plusieurs auteurs (Gallois *et al.*, 1988 ; Murray *et al.*, 1970 ; Murray et Whitfield, 1975), ne semble pas être en mesure d'induire des teneurs importantes dans les raisins et dans les vins. En revanche, des recherches menées en Ontario sur le « ladybug taint », ou littéralement « contamination par la coccinelle », ont montré que la présence dans la vendange d'espèces de coccinelles, comme la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*) largement répandue sur le continent américain ou la coccinelle à sept points (*Coccinella septempunctata*) courante en Europe, était susceptible d'induire de fortes concentrations en IPMP, responsables d'un défaut olfactif dans les vins rouges (Pickering *et al.*, 2005 ; Botezatu *et al.*, 2012a).

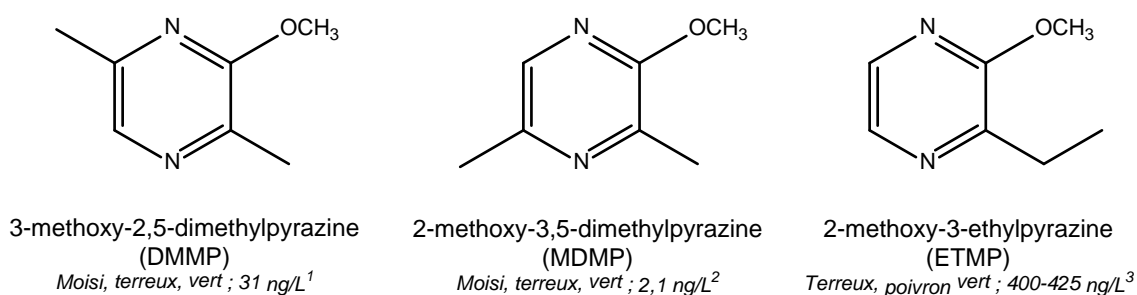
S'agissant de la troisième méthoxypyrazine, la 2-méthoxy-3-*sec*-butylpyrazine (sBMP), ce composé n'a, à ce jour, été considérée que par quelques études ; aucune n'ayant réellement fourni d'informations sur sa contribution au caractère végétal des vins. Elle a ainsi été mentionnée de manière épisodique dans des moûts de Sauvignon blanc (Lacey *et al.*, 1991), de Merlot ou du Cabernet Sauvignon (Sala *et al.*, 2000 ; Hashizume *et al.*, 1996) avec des concentrations n'excédant pas 10 ng/L. Sa présence dans les vins issus de plusieurs cépages rouges et blancs reste tout aussi irrégulière, avec des concentrations très souvent en dessous de la limite de détection des méthodes d'analyses (Godelmann *et al.*, 2007), et même en dessous de 0,4 ng/L (Schmarr *et al.*, 2010). En outre, Lopez *et al.* (2011) ne mentionnent qu'un seul vin de Sauvignon blanc chilien en contenant 1,1 ng/L sur l'ensemble des vins analysés (rouges et blancs). Peu d'informations quant à son origine sont disponibles dans la littérature. Elle semble cependant, comme les autres méthoxypyrazines, plutôt localisée dans la rafle (Hashizume *et al.*, 1996 ; 1997) et pourrait être accrue dans les raisins par l'irrigation et le manque de maturité de ceux-ci (Sala *et al.*, 2005), bien que ces mêmes auteurs ne la détectent pas dans les vins qui en résultent. Au même titre que l'IPMP, sa concentration pourrait être légèrement accrue par l'incorporation de coccinelles (de l'espèce *Harmonia axyridis* principalement) vivantes ou dont la mort n'excède pas 3 jours (Kotseridis *et al.*, 2008 ; Botezatu *et al.*, 2012a). Botezatu *et al.*, (2012a) supposent ainsi qu'elle pourrait contribuer, par un phénomène sensoriel d'additivité avec l'IPMP, à une déviation aromatique à caractère végétal de ces vins. On notera que ces mêmes auteurs mentionnent la présence de sBMP à des teneurs

relativement élevées (6,2 et 8,0 ng/L), respectivement dans les vins témoins de Cabernet-Sauvignon et de Vidal.

Ces mêmes auteurs rapportent la présence d'une autre méthoxypyrazine, la 3-méthoxy-2,5-diméthylpyrazine (DMMP), connue pour sa contribution à l'odeur des coccinelles asiatiques (Cai *et al.*, 2007). L'augmentation des teneurs de cette molécule par l'incorporation des coccinelles est finalement assez faible et la majorité du contenu présent dans les vins semble appartenir au raisin lui-même. Son seuil de détection olfactive orthonasale dans les vins rouges est estimé à 31 ng/L (Botezatu *et al.*, 2012b) avec, toutefois, un impact sensoriel autour de nuances « vertes/végétales » et « moisies/terreuses » avec des concentrations voisines de 120 ng/L. L'analyse de 66 vins commerciaux montre une plage de concentrations comprises entre 18,8 et 166 ng/L dans les vins rouges, avec une prédominance dans les vins des cépages Merlot, Cabernet-Sauvignon et Cabernet-Franc (Botezatu *et al.*, 2016). De plus, 10 % des vins sélectionnés présentent des teneurs autour de 120 ng/L, ce qui laisse penser que ce composé pourrait contribuer, seul ou par des phénomènes d'additivité avec les autres méthoxypyrazines, au caractère végétal des vins rouges.

L'isomère de la 3-méthoxy-2,5-diméthylpyrazine, la 2-méthoxy-3,5-diméthylpyrazine (MDMP) a aussi été identifié dans les vins atteints par le « goût de bouchon » par Simpson *et al.*, 2004. Son odeur diffère de la DMMP puisqu'elle évoque le bouchon, la noisette verte ainsi que le caractère moisi et le terreux à forte concentration. Son seuil de détection olfactive est extrêmement bas : 2,1 ng/L dans les vins blancs secs (Simpson *et al.*, 2004). Elle peut avoir pour origine un développement d'une espèce de bactérie (*Rhizobium excellensis*) sur les bouchons, mais aussi sur les bois de chêne (Chatonnet *et al.*, 2010). Dans le cas du bois de chêne, cette pyrazine est toutefois dégradée par la chauffe (10 min à 220 °C). Bien qu'elle soit associée au côté « terreux » du défaut « goût de bouchon » avec le 2,4,6-trichloroanisole (TCA), elle pourrait aussi contribuer à une composante « végétale » de ce même défaut, en complément de l'IBMP et de l'IPMP dont la présence a pu être attestée dans certains bouchons défectueux (Slabizki *et al.*, 2015). De plus, l'optimisation de la séparation entre les deux isomères par chromatographie bidimensionnelle compréhensive (§ 2.2.2.2) et par l'utilisation d'une phase de type cyclodextrine (LIPODEXG®) comme colonne analytique, a confirmé que le défaut « goût du bouchon » était bien associé à la MDMP, mais a cependant montré que les espèces de coccinelles *H. axyridis* et *C. septempunctata* ne contenait pas de la DMMP, mais plutôt de la MDMP.

Enfin, une dernière méthoxypyrazine, la 2-méthoxy-3-éthylpyrazine (ETMP), à l'odeur terreuse de pomme de terre crue et de poivron vert, a été reportée dans les vins blancs de Sauvignon (Augustyn *et al.*, 1982). Toutefois, ce composé n'était retrouvé dans aucun des 22 vins analysés provenant de plusieurs variétés et de plusieurs pays (Australie, Nouvelle-Zélande, France) (Lacey *et al.*, 1991). Vraisemblablement, la présence de cette méthoxypyrazine se situerait à des niveaux de concentration faibles, bien inférieurs à son seuil de détection olfactive, estimé à 400-425 ng/L dans l'eau (Buttery *et al.*, 1970).

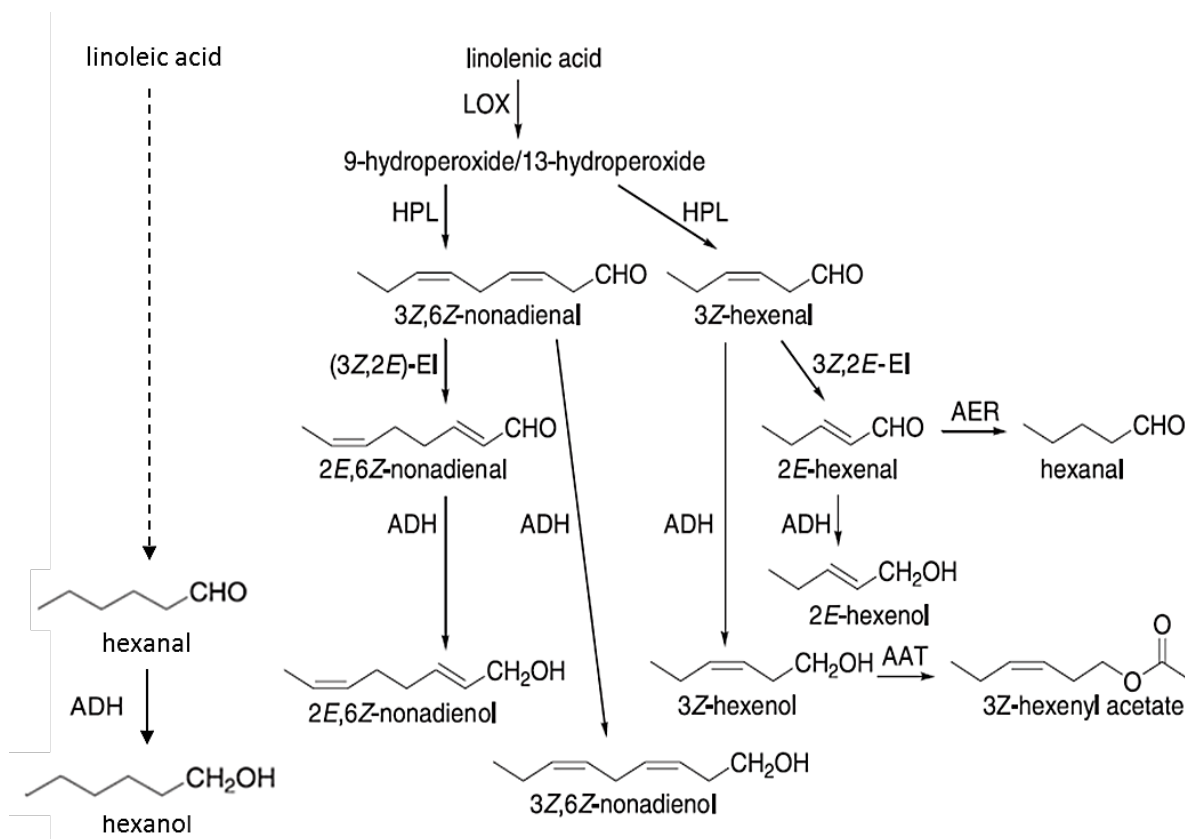


**Figure 5. Structures chimiques de la 3-méthoxy-2,5-méthylpyrazine (DMMP), de la 2-méthoxy-3,5-diméthylpyrazine (MDMP) et de la 2-méthoxy-3-éthylpyrazine (ETMP).** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive dans un vin rouge (Botezatu *et al.*, 2012b) ; <sup>2</sup> Seuil de détection olfactive dans un vin blanc (Simpson *et al.*, 2004) ; <sup>3</sup> Seuil de détection olfactive dans l'eau (Buttery *et al.*, 1970).

### 1.3.2. Les composés aliphatiques

Dans le règne végétal, un grand nombre d'alcools, aldéhydes, cétones, acides, esters et lactones à courtes chaînes sont issus de la dégradation des acides gras (Schwab *et al.*, 2008). Les composés aliphatiques qui en dérivent, et particulièrement les alcools et aldéhydes en C6 et C9, sont des contributeurs majeurs de l'arôme d'un grand nombre de fruits et légumes (Hui *et al.*, 2010). Ceux à six atomes de carbones (C6) sont le plus couramment rencontrés dans le raisin (Ferreira *et al.*, 1995). Dans son ensemble, la voie métabolique de formation de ces composés dans le raisin est similaire à celle des autres fruits (Crouzet *et al.*, 1986). Cette voie implique une série d'enzymes qui oxydent (lipooxygénase) et coupent (hydroperoxyde lyase) les acides gras (**Figure 6**). D'autres enzymes permettent aussi la réduction des aldéhydes formés en alcool (alcool déshydrogénase) ainsi que leur estérification (alcool acyltransférase).





**Figure 6. Voie de biosynthèse des composés volatils dérivant des lipides, adaptée de Schwab *et al.* (2008).** AAT, alcool acyl CoA transférase ; ADH, alcool deshydrogénase ; AER, alkenal oxydoréductase ; AOC, allène oxyde cyclase ; AOS, allène oxyde synthase ; HPL, hydroperoxyde lyase ; JMT, jasmonate méthyltransférase ; LOX, lipoxigénase ; OPR, 12-oxo-phytodienoïque acide réductase ; 3Z, 2E-EI, 3Z, 2E-enal isomérase.

Cette voie de biosynthèse est fortement induite lors du foulage des baies qui engendre la libération des enzymes à partir de leur compartiment d'origine – initialement séparé du substrat – et leur activation par incorporation d'oxygène (Chkaiban *et al.*, 2007 ; Schwab *et al.*, 2008). La première étape, non mentionnée sur la **Figure 6**, consiste dans la libération, par l'action d'acyl hydrolases (AH) sur les lipides membranaires, des acides gras saturés (acide linoléique) ou insaturés (acide linolénique) servant de substrat à l'action des lipooxygénases (LOX). Il est intéressant de noter que l'affinité de l'enzyme pour son substrat va dépendre du fruit lui-même, dans le cas de l'olive, par exemple, la LOX a une plus grande affinité pour l'acide linolénique par rapport à l'acide linoléique (Salas *et al.*, 2000). La production majoritaire de composés insaturés dans le raisin laisse supposer une orientation similaire de ces enzymes (Dunlevy *et al.*, 2009). L'étape suivante est réalisée par des hydroperoxyde lyases (HPL) conduisant à la formation d'aldéhydes à 6 et 9 atomes de carbone (C6, C9), respectivement à partir des 13- et 9-hydroperoxydes. La prédominance des aldéhydes en C6 dans le jus de raisin montre que la



voie des 13-hydropéroxydes est certainement la plus active, bien que la présence du 2,4-nonadienal (aldéhyde en C9) dans les moûts (Kotseridis *et al.*, 2000) affirme l'existence de l'autre voie. S'en suit alors une isomérisation des aldéhydes par diverses isomérases telles la (Z)-3:(E)-2-héxènal isomérase récemment identifiée (Kunishima *et al.*, 2016) et qui permet d'accroître la stabilité chimique des aldéhydes. La réduction des aldéhydes générés au cours du foulage du raisins en leurs alcools correspondants intervient, ensuite, sous l'action des alcool-déshydrogénases (ADH) ; dans un contexte oenologique, la réduction se fait principalement par l'ADH de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Dennis *et al.*, 2012). Dans un certain nombre de fruits, une estérification des alcools peut être réalisée par l'activité d'alcool acétyl transferase (AAT) ; toutefois, l'activité de ces enzymes dans le raisin reste faible comparée à celle d'autres fruits (Dunlevy *et al.*, 2009). Dans le vin, ces esters aux nuances fruitées, et notamment l'acétate d'héxyle, sont majoritairement formés par les activités enzymatiques des levures de l'espèce *S. cerevisiae* (Palomo *et al.*, 2007 ; Keyzers & Boss, 2010 ; Dennis *et al.*, 2012). De même, la levure dispose de fortes activités enzymatiques de réduction des insaturations, activité éno-réductase [exception faite vis à vis des (Z)-3 et (E)-3-hexenol] qui contribuent à limiter la quantité d'alcools insaturés au profit de la formation du 1-hexanol (Joslin & Ough, 1978 ; Herraiz *et al.*, 1990 ; Dennis *et al.*, 2012). Bien que les odeurs de ces composés appartiennent toutes au même registre des nuances aromatiques végétales, feuillues, herbacées/herbe coupée, punaise écrasée pour les alcools et aldéhydes à 6 atomes de carbone (C6), punaise écrasée et concombre pour les C9, le seuil de détection olfactive des aldéhydes se trouve nettement inférieur à ceux des alcools correspondants, et particulièrement à celui de l'hexanol (**Tableau 1**). Ces phénomènes contribuent vraisemblablement à la disparition des odeurs d'herbes coupées des moûts de raisin après la fermentation alcoolique, sinon à leur atténuation des odeurs d'herbes coupées des moûts de raisin après la fermentation alcoolique (Kotseridis *et al.*, 2000). Bien que l'impact des alcools en C6 soit plus limité sur le vin, ils sont considérés comme des marqueurs aromatiques du caractère végétal/herbacé des vins rouges dans de nombreuses études (Noguerol-Pato *et al.*, 2009 ; Mendez-Costabel *et al.*, 2013, 2014).

**Tableau 1. Seuil de détection olfactive dans l'eau (µg/L) des principaux alcools et aldéhydes en C6 et C9.**

| Composé                     | Seuil de détection olfactive dans l'eau (µg/L) | Référence                       |
|-----------------------------|--|---------------------------------|
| <i>Saturés</i>              |  |                                 |
| <b>Hexanal</b>              | 4,5  | <i>Buttery et al., 1969</i>     |
| <b>Hexanol</b>              | 2500   | <i>Buttery &amp; Ling, 1995</i> |
| <i>Insaturés</i>            |  |                                 |
| <b>(E)-2-Hexenal</b>        | 17   | <i>Buttery et al., 1969</i>     |
| <b>(Z)-3-Hexenal</b>        | 0,25   | <i>Buttery et al., 1971</i>     |
| <b>(E)-2-Hexenol</b>        | 400  | <i>Hansen et al., 1992</i>      |
| <b>(Z)-3-Hexenol</b>        | 70   | <i>Buttery et al., 1969</i>     |
| <i>Doubles insaturés</i>    |  |                                 |
| <b>(E,Z)-2,6-Nonadienal</b> | 0,0018-0,002 2                                 | <i>Burlingame et al. 1992</i>   |
| <b>(E,Z)-2,6-Nonadienol</b> | 1  | <i>Takahashi et al., 2002</i>   |

À ce jour, le lien entre ces composés et la maturité des raisins n'a pas été clairement établi. Si certaines études montrent une décroissance des alcools en C6 au cours de la maturation des raisins (Bindon *et al.*, 2013a), d'autres révèlent des tendances moins linéaires avec une prédominance respective des esters d'acétate, des aldéhydes puis des alcools au cours du cycle de la baie (Kalua *et al.*, 2009) ; ou encore une diminution de ceux-ci à partir de la floraison suivie d'un phénomène d'augmentation et d'une nouvelle diminution au cours des deux dernières semaines de maturation (Mendez-Costabel *et al.*, 2013). De plus, bien que l'expression d'un gène codant pour l'une des alcool déshydrogénases (*VvADH2*) soit accrue au cours de la maturation du raisin (Tesnière *et al.*, 2000), sa surexpression ne semble pas impacter les concentrations finales en alcools aliphatiques (Torregrosa *et al.*, 2008). Le mécanisme contrôlant leur production dans le raisin ne dépend donc pas uniquement de cette activité enzymatique (Dunlevy *et al.*, 2009).

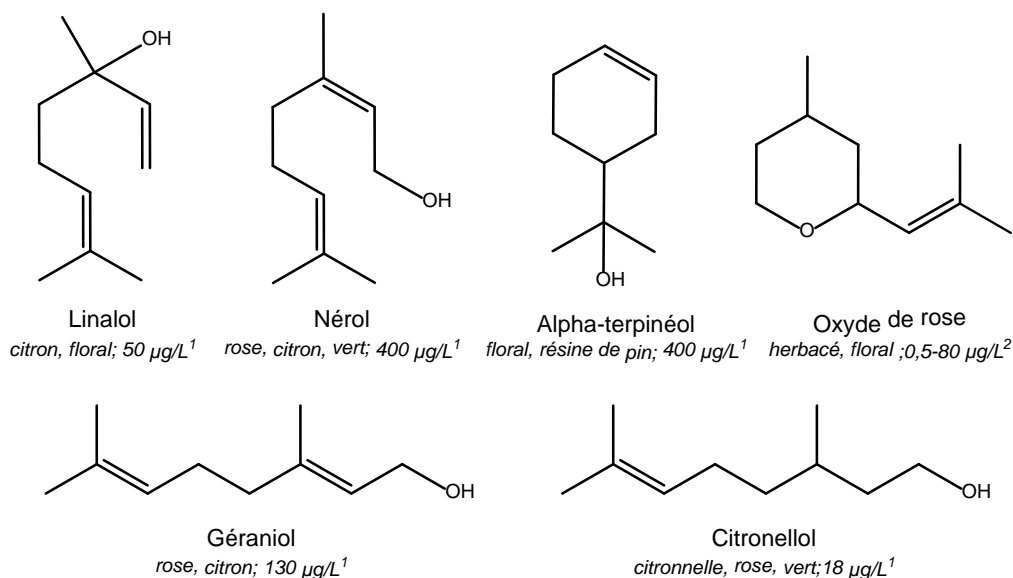
D'autre part, les alcools et aldéhydes en C6, regroupés sous le terme de « Green Leaf Volatiles » où GLVs, sont aussi libérés lorsque le tissu des plantes subit des dommages physiques (Hatanaka, 1993). Des études ont mis en évidence qu'ils permettaient une défense directe vis-à-vis d'insectes herbivores : certaines espèces de noctuelles (*Heliothis virescens*) pour le tabac (De Moraes *et al.* 2001) ; pucerons pour la pomme de terre (Vancanneyt *et al.* 2001). Ils peuvent aussi constituer des éléments de signalisation pour les plantes de la même espèce ou d'espèces différentes (Baldwin *et al.*, 2006) en jouant un rôle majeur dans la diffusion de l'information et la mise en garde des plants voisins (Engelberth *et al.*, 2004).

### 1.3.3. Les composés terpéniques

Les terpénoïdes constituent une classe de composés organiques largement distribués dans la nature. Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont synthétisés, respectivement, à partir du 2-(*E*)-géranyl diphosphate (GPP) et du 6-E-farnésyl diphosphate (FPP) sous l'action de la terpène synthase (Lucker *et al.*, 2004). Ces deux précurseurs dérivent, chacun, de l'isopentyl pyrophosphate (IPP) et du diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) selon deux voies principales : la voie du mévalonate (MVA) à l'origine du FPP ; la voie du methyl-erythritol-phosphate (MEP) à l'origine du GPP (Rohmer *et al.*, 1999) ; cette dernière voie étant privilégiée chez la vigne.

Un grand nombre de monoterpènes ont été identifié dans le raisin (Schreier *et al.*, 1976 ; Rapp , 1998) sous forme libre ou liée par glycosylation à des molécules d'arabinose, de rhamnose, de xylose, apiose ou de glucose (Williams , 1993). Les formes liées sont souvent majoritaires par rapport aux formes libres (Gunata *et al.*, 1985a) et peuvent être libérées sous l'action enzymatique des glycosidases du raisin, bien que leur activité soit faible dans les conditions physico-chimiques du moût (Pogorzelski & wilkowska, 2007). Elles peuvent aussi être libérées sous l'action enzymatique des levures (Bisotto *et al.*, 2015), des bactéries lactiques de l'espèce *Oenococcus oeni* (Grimaldi *et al.*, 2005) ou de la salive du dégustateur (Mayr *et al.*, 2014a).

Parmi eux, les alcools monoterpéniques comme le linalol, le nérol, le géraniol, le citronellol, l' $\alpha$ -terpineol et parfois l'oxyde de rose sous ces différentes formes (cis/trans) (**Figure 7**), contribuent à l'arôme des cépages dits « muscatés » (Etiévant & Bayonove, 1983 ; Guth, 1997). Bien que la majorité d'entre eux possèdent des propriétés aromatiques s'apparentant au registre « vert frais », ils confèrent surtout aux vins des nuances florales très caractéristiques (Gunata *et al.*, 1985a). Leur présence dans les vins rouges d'un grand nombre de cépages est attestée, mais avec des niveaux de concentration qui restent, toutefois, nettement inférieurs à ceux des cépages muscatés comme le Gewurztraminer ou le Muscat (Black *et al.*, 2015), et souvent en dessous de leur seuil de détection olfactive ; hormis pour le linalol retrouvé à des niveaux excessivement importants (jusqu'à 170  $\mu\text{g/L}$ ) dans des vins rouges néo-zélandais de Pinot noir (Tomasino *et al.*, 2015).

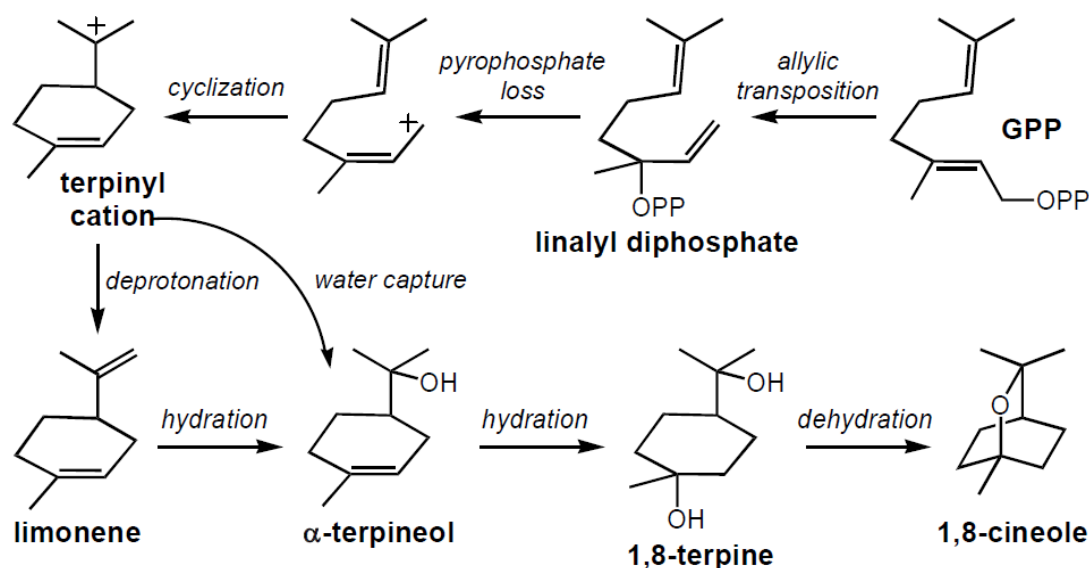


**Figure 7. Structures chimiques des principaux monoterpènes présents dans les vins.** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive dans le vin (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012) ; <sup>2</sup> Seuil de détection olfactive dans l'eau (Black *et al.*, 2015).

D'une manière générale, la concentration de ces composés va dans le sens de la maturité du raisin avec une augmentation à partir de la véraison, et particulièrement pour le linalol (Wilson *et al.*, 1984 ; Park *et al.*, 1991). Cette accumulation est sous la dépendance de l'expression de gènes (*Vitis vinifera* terpenoïde synthases, *VvTPs*) au cours du développement de la baie (Lucker *et al.*, 2004 ; Martin *et al.*, 2010).

Des études postérieures ont démontré la contribution à l'arôme des vins rouges d'un autre monoterpène, le 1,8-cinéole ou eucalyptol (**Figure 9**). Ce composé, à l'odeur fraîche, médicinale et camphrée évoque l'essence d'eucalyptus dont il est le constituant à 90 % (Brophy & Southwell 2002). Il a été identifié pour la première fois dans les vins californiens par Hervé *et al.*, (2003) qui ont estimé son seuil de détection olfactive à 1,1  $\mu\text{g/L}$  dans les vins rouges de Merlot provenant de la même région. La compréhension de son origine a ensuite fait l'objet de plusieurs investigations récentes. Rejoignant des études plus anciennes qui démontrent la réactivité des composés terpéniques dans les conditions physico-chimiques du vin (Baxter *et al.*, 1978 ; Silva Ferreira *et al.*, 2002), Farina *et al.* (2005) suggèrent que le 1,8-cinéole retrouvé dans des vins de Tannat (Uruguay) serait formé à partir d'autres terpènes (limonène et  $\alpha$ -terpinéol) par hydrolyse acide et réarrangement au cours du vieillissement. Toutefois, le faible taux de conversion (environ 0,6 %) sur une période de 2 ans indique que ces terpènes ne peuvent être l'unique source d'eucalyptol dans les vins (Capone *et al.*, 2011). D'autres auteurs prouvent l'origine exogène de celui-ci suggérée par Hervé *et al.* (2003), en lien avec les eucalyptus

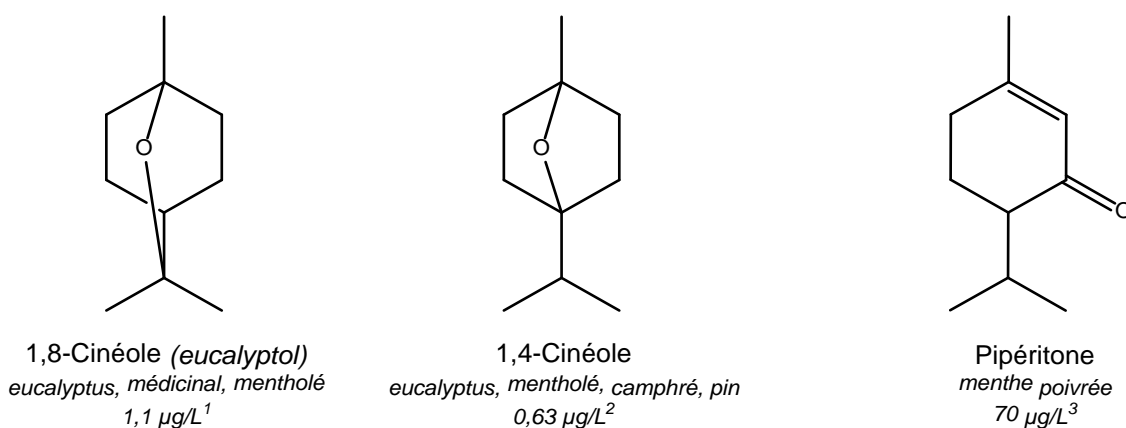
présents dans l'environnement des vignobles de certaines régions du monde comme l'Australie. Ainsi, l'incorporation de matériel végétal d'eucalyptus dans la récolte est la première cause d'augmentation des concentrations en 1,8-cinéole. Le transfert aérien sur les feuilles – susceptibles d'accroître les teneurs en eucalyptol par leur intégration à la vendange – et sur les grappes les plus proches des rangées d'eucalyptus, jusqu'à 50 m en moyenne, constitue aussi une autre source de 1,8-cinéole dans les vins australiens (Capone *et al.*, 2011 ; 2012). Toutefois, la dimension variétale du 1,8-cinéole reste controversée et ses facteurs de variation peu compris. En effet, Kalua *et al.* (2009) suggèrent que ce composé est le terpène majoritaire formé dans les tissus floraux, mais qu'il subit une disparition complète précocement dans le développement de la baie (7 semaines seulement après la floraison). Par ailleurs, d'autres études ont indiqué que les concentrations en 1,8-cinéole étaient faibles jusqu'à la véraison et qu'elles augmentaient notablement par la suite, suivant ainsi le schéma des autres terpénols (Farina *et al.*, 2005). En se basant sur un certain nombre d'études (Pemberton *et al.*, 2015), notamment basées sur la chimie quantique (Wise *et al.*, 2002 ; Zu *et al.*, 2012), Wedler *et al.* (2015) proposent un mécanisme de formation possible du 1,8-cinéole dans le raisin, basé sur des carbocations intermédiaires (**Figure 8**).



**Figure 8.** Voie de formation hypothétique du 1,8-cinéole dans le raisin proposé par Wedler *et al.* (2015).

Un isomère du 1,8-cinéole, le 1,4-cinéole (**Figure 9**), a aussi récemment été mis en évidence dans les vins australiens, avec des concentrations supérieures pour les vins de Cabernets-Sauvignon. Seul, il contribue à accroître de manière significative les nuances de foin dans les vins rouges à partir d'une concentration de 0,63 µg/L. En revanche, lorsqu'il est associé au 1,8-cinéole, il augmente la perception végétale de type « feuille de laurier » (Antalick *et al.*, 2015).

Récemment, des études ont porté sur un autre composé terpénique, la pipéritone, identifiée dans les vins rouges par Pons (2006). Ce composé pourrait contribuer aux nuances menthées caractéristiques du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux (Picard *et al.*, 2016), bien que la concentration maximale retrouvée (1,09 µg/L) reste nettement inférieure au seuil de perception théorique de 70 µg/L (Pons *et al.*, 2016). De même, le lien entre ce composé et l'âge du vin n'a pu être formellement établi (Pons *et al.*, 2016).



**Figure 9. Structure chimique du 1,8-cinéole, du 1,4-cinéole et de la pipéritone.** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive, vin rouge californien de Merlot (Hervé *et al.*, 2003) ; <sup>2</sup> Concentration minimale d'impact olfactif dans les vins rouges australiens (Antalick *et al.*, 2015) ; <sup>3</sup> Seuil de détection olfactive, vin rouge de Bordeaux (Pons *et al.*, 2016).

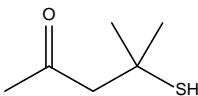
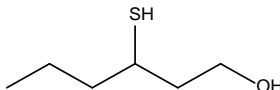
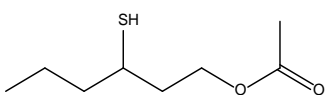
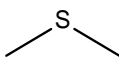
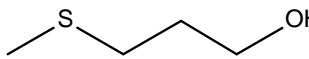
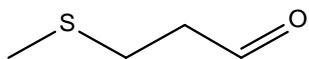
Les nuances que procurent donc ces composés au vin, et qui rejoignent le registre végétal frais de type « menthé/mentholé » tel que défini plus haut (§ 1.2.1), trouvent bien des critères d'appréciation auprès du consommateur puisque, par exemple, le seuil de rejet du 1,8-cinéole est de 27,2 µg/L (Saliba *et al.*, 2009), soit un niveau de concentration rarement atteint dans les vins.

### 1.3.4. Les composés soufrés volatils

Les composés organosulfurés sont assez communs et le plus souvent associés à de mauvaises odeurs produites par les microorganismes. Ces molécules sont largement distribuées dans les vins, avec des niveaux de concentration allant de quelques ng/L à quelques mg/L (**Tableau 2**). En fonction de leur seuil de détection olfactive tout aussi variable, ils peuvent être des contributeurs majeurs de l'arôme des vins (Mestre *et al.*, 2000).

Si la majorité de ceux produits par les microorganismes comme *S. cerevisiae* vont être associés à des odeurs nauséabondes « sulfurées » proche de l'œuf pourri (cas du sulfure d'hydrogène où  $H_2S$ ), une autre partie d'entre eux, les thiols volatils d'origine variétale, portent des odeurs plus agréables, à mi-chemin entre des nuances fruitées (fruit de la passion, pamplemousse) et des nuances vertes, végétales (buis, genêt, rhubarbe).

**Tableau 2. Récapitulatif des principaux composés soufrés volatils associés à des odeurs végétales dans les vins.**

| Composé   | Structure chimique  | Descripteurs                            | Seuil de détection        |
|---|---|---|---------------------------|
| <b>4-methyl-4-sulfanylpentan-2-one<br/>(4-MSP)</b>  |  | Buis, genêt, urine de chat              | 0,8 ng/L <sup>1</sup>     |
| <b>3-sulfanylhexan-1-ol<br/>(3-SH)</b>              |  | Pamplemousse, fruit de la passion       | 60 ng/L <sup>1</sup>      |
| <b>acétate de 3-sulfanylhexan-1-ol<br/>(A-3-SH)</b> |  | buis, genêt, fruit de la passion,       | 4,2 ng/L <sup>1</sup>     |
| <b>sulfure de diméthyle<br/>(DMS)</b>               |  | Chou, asperge                           | 27 µg/L <sup>2</sup>      |
| <b>3-methyl-thio-1-propanol<br/>(methionol)</b>     |  | Chou cuit, pomme de terre bouillie,     | 1,2-4,5 mg/L <sup>3</sup> |
| <b>3-methyl-thio-1-propanal<br/>(methional)</b>     |  | Oignon, pomme de terre bouillie, viande | 0,5 µg/L <sup>4</sup>     |

\*<sup>1</sup> Seuil de détection olfactive en milieu modèle de vin (Darriet *et al.*, 1995 ; Tominaga *et al.*, 1998a) ;

<sup>2</sup> Seuil de détection olfactive dans un vin rouge (Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996) ; <sup>3</sup> Seuil de détection olfactive dans les vins (Mestres *et al.*, 2000) ; <sup>4</sup> Seuil de détection olfactive en solution modèle (Escudero *et al.*, 2000).

Les principaux représentants de cette dernière catégorie sont la **4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one, 4-MSP** (Darriet *et al.*, 1995) ; l'**acétate de 3-sulfanylhexan-1-ol, A-3-SH** (Tominaga *et al.*, 1996) et le **3-sulfanylhexan-1-ol, 3-SH** (Tominaga *et al.*, 1998a). Ils sont donc présents dans le raisin sous forme de précurseurs conjugués au glutathion (des Gachons *et al.*, 2002) ou à la cystéine (Tominaga *et al.*, 1998b) et sont ensuite libérés par l'activité  $\beta$ -lyase des levures au cours de la fermentation alcoolique (Dubourdieu *et al.*, 2006). Bien que la formation du 3-SH à partir d'une réaction de substitution nucléophile entre l' $\text{H}_2\text{S}$  et le (*E*)-2-hexenal soit mentionnée (Schneider *et al.*, 2006 ; Harsch *et al.*, 2013), son rendement reste faible (Bocker, 2014).

De plus, ces thiols volatils contribuent à l'arôme de vins issus d'un grand nombre de cépages blancs tels que le Sauvignon, le Colombard, le Petit Manseng, le Semillon, ainsi que le Riesling ou la petite Arvine (Darriet *et al.* 1995; Guth, 1997 ; Tominaga *et al.* 1998a, 2000; Fretz *et al.*, 2005 ; Schüttler *et al.* 2015). Leur présence dans les vins rouges de Merlot, de Cabernet-Sauvignon, de Cabernet franc et de Grenache est également attestée (Bouchilloux *et al.*, 1998 ; Blanchard *et al.*, 2004 ; Ferreira *et al.*, 2002a ; Picard *et al.*, 2015b). Ces composés possèdent toutefois une forte réactivité avec les polyphénols du milieu qui tend à diminuer leur concentration (Blanchard *et al.*, 2004). Cette réaction avec les polyphénols oxydés (O-quinones) est favorisée par l'absence de  $\text{SO}_2$  et la présence de métaux tels que le fer ou le cuivre (Nikolantonaki *et al.*, 2012). Cependant, du fait de leur seuil de détection olfactive extrêmement bas (**Tableau 2**), ils sont reconnus comme des molécules d'impact dans les vins rouges où ils contribuent à renforcer les nuances de cassis (Blanchard *et al.*, 2004 ; Rigou *et al.*, 2014). Bien qu'il soit possible de conjuguer l'odeur du cassis, dont le fruit possède des teneurs en IBMP 6 à 20 fois supérieures aux autres baies (Roujou de Boubée, 2000), à une dimension végétale, son arôme intègre toutefois la catégorie « fruitée » (§ 1.2.1). Cependant l'élimination des thiols, en particulier du 3-sulfanylhexanol dans les vins rouges, par ajout de sulfate de cuivre (< 100 mg/L) est souvent associée par certains dégustateurs, à une diminution des nuances végétales dans les vins (communication personnelle).

Un autre composé soufré léger, le **sulfure de diméthyle** où **DMS**, produit par la dégradation de la cystéine et de la méthionine a aussi fait l'objet de plusieurs études dans les vins. Contrairement aux thiols, sa concentration augmente au cours du vieillissement du vin en bouteille (Marais *et al.*, 1979 ; De Mora *et al.*, 1987 ; Anocibar-Beloqui, 1998). Des recherches ont montré que le DMS pouvait avoir un effet indirect sur l'arôme des vins en se comportant

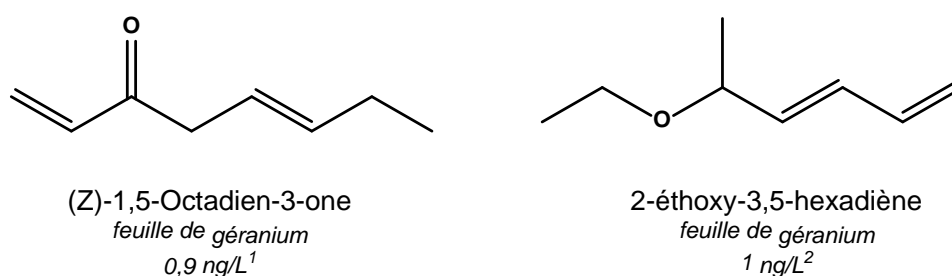


comme un exhausteur du fruité des vins rouges (Escudero *et al.*, 2007 ; Lytra *et al.*, 2014), mais aussi induire directement des odeurs de truffe (Segurel *et al.*, 2004 ; Picard *et al.*, 2015b) et des nuances végétales comme le foin, l'olive verte (Anocibar-Beloqui, 1996 ; Escudero *et al.*, 2007) ou l'olive noire dans les vins de Grenache et de Syrah (Ségurel *et al.*, 2004).

Enfin, deux autres composés soufrés peuvent aussi occasionner des odeurs végétales dans les vins : le **3-methyl-thio-1-propanol (méthionol)** et le **3-methyl-thio-1-propanal (méthional)**. Ces composés sont associés aux odeurs de « végétal cuit » (§ 1.2.1) comme la pomme de terre bouillie, le chou et le chou-fleur cuisiné. Si le premier, le méthionol, dérive directement du catabolisme de la méthionine par *S. cerevisiae* (Moreira *et al.*, 2002) ou *Oenococcus oeni* (Vallet *et al.*, 2008), le second est issu de l'oxydation des vins (réaction de Strecker) dont il est tenu responsable des odeurs de légumes cuits (Escudero *et al.*, 2000 ; Mayr *et al.*, 2015 ; Bueno *et al.*, 2016).

### 1.3.5. Autres composés

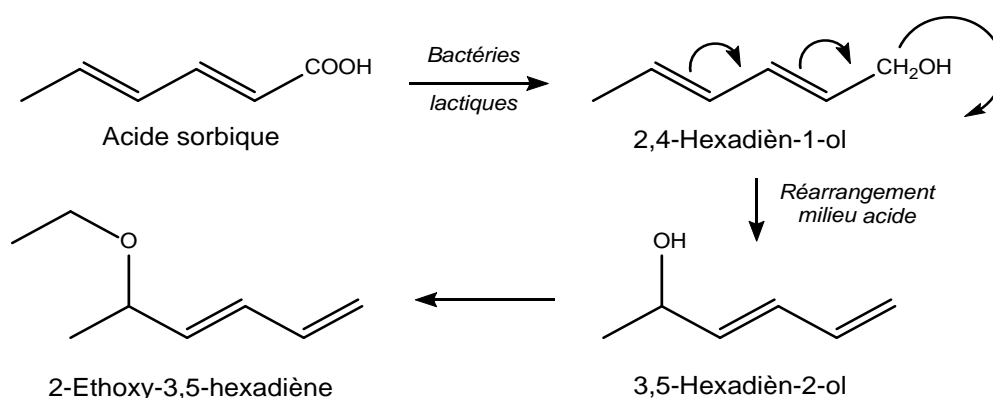
Des composés organiques identifiés dans les vins, appartenant à d'autres familles que celles énoncées précédemment, peuvent aussi, par leur fort pouvoir odorant, leur conférer des nuances végétales, avec des notes rappelant la feuille de géranium (**Figure 10**). Bien que cette nuance aromatique ne soit pas décrite par Noble *et al.* (1987), elle rejoint pleinement la famille aromatique du végétal par l'odeur très « feuillue », quoique légèrement « métallique », qu'elle porte.



**Figure 10. Structure chimique de la (Z)-1,5-octadien-3-one et du 2-éthoxy-3,5-hexadiène.** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive dans l'eau (Darriet *et al.*, 2002) ; <sup>2</sup> Seuil de détection olfactive (Chisholm & Samuel ; 1992).

La (Z)-1,5-octadièn-3-one, identifiée comme produit d'autoxydation de lipides insaturés (Swoboda & Peers, 1977), a été repéré pour la première fois par analyse chromatographique dans une macération de grappes de raisin de Cabernet-Sauvignon en présence de rafles (Hashizume *et al.*, 1997), mais aussi dans les baies de raisins atteints par l'oïdium (*Uncinula necator*) où elle est associée à la 1-octen-3-one présentant des notes de champignon frais (Darriet *et al.*, 2002). Au cours de la fermentation alcoolique, cette molécule subit une hydrogénation sous l'action de *S. cerevisiae* à l'origine de la formation de la (Z)-5-octen-3-one qui présente les mêmes caractéristiques olfactives, mais un seuil de détection bien plus élevé ( $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) que celui de la (Z)-1,5-octadienone ( $0,9 \text{ ng/L}$ ). Ce phénomène explique la disparition d'une grande partie de l'odeur fongique des moûts atteints par l'oïdium (Darriet *et al.*, 2002).

Le 2-éthoxy-3,5-hexadiène possèdent de fortes similarités d'odeur et de pouvoir odorant avec la (Z)-1,5-octadièn-3-one puisque son seuil est également estimé à  $1 \text{ ng/L}$  dans les vins (Chisholm & Samuels, 1992). Toutefois, son origine est bien distincte puisque ce composé dérive de la dégradation de l'acide sorbique, fongistatique parfois employé comme complément du  $\text{SO}_2$  pour la stabilité levurienne des vins, par les bactéries lactiques (Crowell & Guymon *et al.*, 1975). L'action des bactéries donne lieu à un intermédiaire réactionnel, le 2,4-hexadièn-1-ol, qui subit lui-même un réarrangement électronique dans les conditions physico-chimiques du vin pour former le 2-éthoxy-3,5-hexadiène (**Figure 11**). Bien que les composés intermédiaires présentent aussi des odeurs végétales (herbe fraîche, feuille verte), ils sont nettement moins odorants que le 2-éthoxy-3,5-hexadiène (Chisholm & Samuels, 1992).



**Figure 11. Mécanisme réactionnel conduisant à la formation du 2-éthoxy-3,5-hexadiène dans les vins (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).**

## 2. LES METHODES D'ANALYSE DES COMPOSES VOLATILS EN ŒNOLOGIE

### 2.1. Méthodes d'extraction

#### 2.1.1. Généralités sur les techniques d'extraction

L'extraction représente une première étape, parfois déterminante, dans le processus d'analyse des molécules volatiles. Les informations obtenues en aval, par analyse chromatographique ou spectrométrique notamment, en dépendront. Qu'elle soit orientée pour l'analyse qualitative ou quantitative de l'extrait, l'extraction doit limiter au maximum les artefacts. Elle ne doit pas conduire à une discrimination entre les différents composés, ne pas induire de réactions physico-chimiques (dégradations thermiques, oxydation, réduction, hydrolyse, changement de pH) ou engendrer la perte excessive de composés. Le choix de la technique d'extraction dépendra donc des attentes de l'analyste au regard des caractéristiques de la matrice. Par exemple, dans le cas d'une matrice complexe comme le vin, constituée de centaines de molécules volatiles, dont certaines présentes à l'état de traces (ng/L), l'ajustement de sélectivité que permet cette étape pourra constituer un critère déterminant la qualité et la réussite de l'analyse. À l'inverse, dans le cas d'une caractérisation générale, l'extrait le plus représentatif de la matrice initiale sera recherché et l'extraction se voudra volontairement la moins sélective possible.

#### 2.1.2. Principales techniques d'extraction appliquées à l'Œnologie

L'*extraction liquide-liquide (LLE)* est la technique de référence, classiquement utilisée dans l'extraction des composés volatils des moûts (Schreier *et al.*, 1976 ; Mamede *et al.*, 2006) et des vins (Moio *et al.*, 1995 ; Schneider *et al.*, 1998). Simple, elle repose sur la différence d'affinité des solutés entre la phase organique constituée par le solvant et la phase liquide. Dans le cas du vin, le caractère hydroalcoolique de la matrice engendre, généralement, une baisse du rendement d'extraction. La comparaison des principaux solvants d'extraction utilisés en œnologie est favorable au dichlorométhane (Ferreira *et al.*, 2000a). Les mêmes auteurs

précisent que l'ajout de sel augmente principalement le recouvrement des acides de Lewis et que l'efficacité de l'extraction ne dépend pas uniquement de la polarité du solvant, mais aussi de sa solubilité dans l'eau. Ils attestent aussi de l'efficacité de l'utilisation de certains polymères absorbants pour l'extraction des composés volatils.

Lopez *et al.*, (2002) confirment l'efficacité de la technique **d'extraction en phase solide (SPE)** pour l'analyse quantitative de 22 composés odorants du vin appartenant à différentes familles chimiques (phénols, norisoprénoides, lactones, esters, terpènes). Cette technique a aussi démontré son efficacité dans la quantification des composés soufrés volatils clefs des vins tels que le 2-méthyl-3-furanthiol, le 2-furfurylthiol, la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one (4-MSP), acétate de 3-sulfanylhéxan-1-ol (A-3-SH) ou le 3-sulfanylhéxan-1-ol (3-SH) (Mateo-Vivaracho *et al.*, 2009). Par rapport à l'extraction liquide/liquide classique, elle garde l'avantage de limiter l'utilisation des solvants et la phase de concentration qui en résulte, mais également d'atténuer les pertes associées à l'émulsion créée par l'agitation du vin.

Une autre technique, la **micro-extraction sur phase solide (SPME)**, présentant l'avantage d'exclure l'utilisation de solvants, a subi un fort développement depuis son introduction dans les années 1990 (Arthur & Pawliszyn, 1990). C'est une technique simple, automatisable, qui repose sur la capacité de sorption/désorption de molécules organiques sur une fibre de silice recouverte d'un film de polymères qui peut être immergée (DI-SPME), ou, le plus souvent, positionnée dans l'espace de tête (HS-SPME) de l'échantillon à analyser. Plusieurs paramètres doivent être optimisés lors d'un développement de méthode de quantification par SPME (Risticvic *et al.* 2010). Le *type de fibre* constitue l'un des paramètres principaux qui va déterminer la sélectivité de l'extraction par sa polarité. Les fibres les plus couramment utilisées pour l'analyse des vins sont composées de polydiméthylsiloxane (PDMS), de polyacrylate (PA), de divinylbenzène (DVB), de carboxen (CAR) ou d'un mélange de deux ou trois de ces polymères (Vas *et al.*, 2004). La *température d'incubation* est un autre facteur d'importance qui assure l'augmentation des composés cibles en phase vapeur ; de même qu'un effet « *salting-out* » par addition d'un électrolyte entraîne une moindre solubilité des analytes dans la matrice et engendre leur passage dans la phase gazeuse (Mazo *et al.*, 2006). Le *temps d'incubation* pourra aussi être ajusté : très court (< 5 min) si l'on souhaite analyser les composés présents dans l'espace de tête ; plus long si l'on souhaite y inclure l'équilibre entre la phase gazeuse et la phase liquide et accroître la quantité d'analytes adsorbés sur la fibre. Un temps plus long (> 30 min) permettant la mise en place des équilibres de partage des analytes entre la phase liquide, la phase gazeuse et la phase solide (fibre) est généralement recherché afin de limiter la

variabilité de la méthode. De même, une *phase d'équilibration* avant installation de la fibre permet aussi une réduction des erreurs de mesure. L'*agitation* et la *désorption* seront aussi des paramètres impactant, le premier en facilitant le transfert des molécules dans l'espace gazeux, le second en assurant leur transfert vers l'analyseur. Lorsque l'analyse est couplée à la chromatographie en phase gazeuse, cette étape de désorption est réalisée dans l'injecteur à chaud et dans des conditions qui permettent une désorption rapide tout en minimisant les réactions thermiques. Une fois cette étape d'optimisation réalisée, la SPME, par sa simplicité de mise en œuvre, est une technique de choix pour l'analyse de la plupart des familles de composés odorants du vin (esters éthyliques d'acides gras et acétates d'alcools supérieurs, acides gras, alcools supérieurs (Antalick *et al.* 2010 ; Siebert *et al.*, 2005), monoterpènes et dérivés C13-norisoprénoides (Câmara *et al.*, 2006), méthoxypyrazines (Hartmann *et al.* 2002), composés volatils issus du bois de chêne (Carrillo *et al.*, 2006) ; avec, toutefois, des limites pour l'analyse des composés soufrés présents à l'état de traces (certains thiols volatils). Aussi, l'extraction par SPME est présentée comme une alternative intéressante à l'extraction liquide-liquide dans le cas de la caractérisation d'échantillons par CPG-olfactométrie (CPG-O) (Gürbüz *et al.*, 2006). Il convient cependant de garder à l'esprit le caractère sélectif de l'extraction mais aussi le fait qu'il est plus difficile d'apprécier la représentativité odorante des extraits avant leur analyse, comme cela est possible par l'utilisation de mouillettes sur les extraits organiques obtenus par LLE ou SPE.

### 2.1.3. Comparaison des performances des méthodes d'extraction

Plusieurs auteurs ont comparé les performances de ces méthodes d'extractions sur la quantification des composés aromatique du moût (Sanchez-Palomo *et al.*, 2009) ou du vin (Castro *et al.*, 2004 ; Andujar-Ortiz *et al.*, 2009). D'une manière générale, les trois méthodes principales (LLE, SPE, SPME) sont adaptées à cette problématique. Il en ressort cependant que les techniques de LLE ou de SPE procurent généralement de meilleurs résultats de linéarité, de recouvrement et de répétabilité par rapport à la SPME (Andujar-Ortiz *et al.*, 2009). L'utilisation d'un étalon interne adapté à la méthode de quantification (étalon deutéré) est donc particulièrement recommandé (Polášková *et al.*, 2008 ; Ebeler *et al.*, 2012). En terme de sensibilité, la SPME affiche, en revanche, d'excellentes performances (Castro *et al.*, 2004) qui assurent même, dans certains cas, la détection de molécules odorantes clés non détectées par l'extraction liquide/liquide (Dominguez *et al.*, 2010).

## 2.2. Méthodes de séparation et d'analyse

Afin d'analyser séparément les éléments organiques constitutifs de la matrice extraite, différentes techniques de séparation – généralistes ou qui en dérivent – seront employées selon une application particulière, propre au domaine des composés volatils odorants. Comme pour les méthodes d'extraction, chacune constitue autant d'alternatives possibles à l'atteinte des objectifs d'identification ou de quantification

Dans cette revue bibliographique, nous ne développerons pas les applications classiques telles que la Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) par exemple, largement documentées dans la littérature, mais nous focaliserons notre propos sur quelques applications spécifiques, propres au domaine des arômes et du vin, et qui assurent l'étude des composés volatils présent à l'état de trace dans la matrice complexe qu'il représente.

### 2.2.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à l'Olfactométrie (CPG-O)

La Chromatographie en Phase Gazeuse est la technique de référence dans le domaine de l'analyse des composés volatils, c'est la technique de séparation qui reste – de loin – la plus employée pour l'étude des arômes du vin. Sans rentrer dans le détail d'un principe bien connu, elle repose, comme toutes les méthodes chromatographiques, sur une migration différentielle des constituants d'un mélange à travers une phase stationnaire de polarité variable. Cette technique de séparation peut être couplée à des détecteurs non spécifiques tels que le détecteur à ionisation de flamme (FID) ou spécifique de molécules soufrées (FPD) et azotées (NPD). Elle est aussi très souvent associée à un spectromètre de masse (SM).

Dès 1964, Fuller *et al.* proposent d'employer le nez humain comme détecteur. L'adaptation de la chromatographie en phase gazeuse au champ des odeurs présente l'intérêt de séparer les différentes molécules constitutives de l'image olfactive du vin en vue de leur caractérisation sensorielle. Elle a aussi l'avantage de considérer les molécules odorantes d'impact souvent présentes à des concentrations extrêmement faibles (§ 1) ; le plus souvent en dessous de la limite de détection des appareils de mesure.

En complément de l'approche CPG-O, des méthodes de hiérarchisation des odeurs perçues ont été développées par plusieurs auteurs. Deux méthodes basées sur des *dilutions* ont été initialement proposées pour évaluer la puissance olfactive des zones odorantes (Grosch, 1993, 1994 ; Ullrich & Grosch, 1987 ; Acree *et al.*, 1984) : *CHARM* (Combined Hedonic Aroma Response Measurement) et *AEDA* (Aroma Extract Dilution Analysis). En *AEDA*, des dilutions en cascade permettent d'estimer une valeur FD seuil (facteur de dilution) pour chacune des zones odorantes correspondant à la dernière dilution où l'odeur est perceptible. La méthode *CHARM* repose sur le même principe, mais ajoute simplement l'évaluation de la durée de perception olfactive pour chacune des odeurs. Un grand nombre de travaux ont appliqué ces deux méthodes pour la caractérisation des vins de cépages rouges comme le Merlot, le Cabernet Sauvignon ou le Pinot noir (Kotseridis & Baumes, 2000 ; Yuan & Qian, 2016), le Grenache (Ferreira *et al.*, 2002a), le Sémillon et le Sauvignon blanc (Sarrazin, 2007) pour l'*AEDA*, mais également le Chardonnay (Laurent *et al.*, 1994 ; Moio *et al.*, 1994) ou le Riesling (Chisholm *et al.*, 1994) pour la méthode *CHARM*. Ces deux méthodes sont assez longues à mettre en œuvre. Elles présupposent toutefois que la pente de réponse des composés odorants à la dilution soit la même et que chacun ait une relation linéaire en fonction de sa concentration, ce qui a été invalidé par les travaux de Sauvageot (1990) (§ 3.3.2).

La mesure de *fréquence de détection* a été proposée la première fois par Linssen *et al.*, 1993 et ne repose pas, contrairement aux précédentes, sur un seuil de détection. Le nombre de juges capables de détecter l'odeur donne la hauteur sur une échelle ayant pour unité la valeur NIF (Nasal Impact Frequency) ou la valeur SNIF (Surface Nasal Impact Frequency (% de fréquence x durée en seconde) quand la durée du stimulus est prise en considération. Ces méthodes basées sur la fréquence de détection permettent de s'affranchir des différences de sensibilités individuelles au sein d'une population, mais nécessitent de pouvoir réunir un panel minimum de 8 personnes.

D'autres méthodes, enfin, reposent sur une évaluation de l'*intensité* de l'odeur. C'est le cas de la méthode *OSME* (Odour Specific Magnitude Estimation) dans laquelle le juge enregistre de façon continue l'intensité de l'odeur par un curseur, de la méthode *post-intensité* où l'évaluation est effectuée à la fin du stimulus, ou encore de la méthode *FSCM* (Finger Span Cross Modality) basée sur un mouvement intuitif de la main du panéliste lors du stimulus (Mc Daniel *et al.*, 1990 ; Drawert & Christophe, 1984 ; Etievant *et al.* 1999). Ces évaluations ont été utilisées en œnologie (Darriet *et al.*, 1991), mais nécessitent des panelistes entraînés.

Si ces méthodes restent de bons outils pour une première approche de caractérisation des extraits par CPG-O, elles ne sont pas suffisantes pour conclure quant à l'impact d'un composé odorant dans la matrice initiale, en l'occurrence le vin. L'impact olfactif d'une molécule dans un mélange complexe reste globalement imprévisible à cause des nombreux phénomènes d'interactions physico-chimiques susceptibles de se produire (§ 3.2.3). De plus, un effet matrice et des interactions entre composés non volatils et volatils peuvent aussi impacter la perception du composé (Pineau *et al.* 2007 ; Robinson *et al.*, 2009 ; Sáenz-Navajas *et al.* 2010, 2012). Une technique récente appelée CPG-olfactométrie de reconstitution (GC-R) permet de considérer ces effets par la cryofocalisation de plusieurs zones odorantes avant l'évaluation sensorielle du mélange dans le cône d'olfaction (Johnson *et al.*, 2012). Elle constitue ainsi une variante de la CPG-préparative utilisée depuis une vingtaine d'années (Eglinton *et al.*, 1996 ; Currie *et al.*, 1997 ; Uchida *et al.*, 2000) et qui permet, par un piégeage cryogénique des zones odorantes, la récupération (condensation) des composés volatils en vue de mesurer, par exemple, l'impact de leur omission dans le mélange initiale (Stamatopoulos *et al.*, 2015).

## **2.2.2. La Chromatographie en Phase Gazeuse multidimensionnelle**

La chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle est une application particulière de la chromatographie classique qui s'adapte à la problématique principale qu'un certain nombre de molécules contributrices de l'odeur sont présentes à des concentrations très faibles dans la matrice complexe du vin et sont coéluées avec d'autres composés volatils, généralement plus abondants. Ainsi, les approches de chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle visent à optimiser la séparation chromatographique des composés traces en vue de leur identification ou de leur quantification.

### **2.2.2.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse bidimensionnelle (CPG-CPG)**

L'utilisation en œnologie de la CPG bidimensionnelle, impliquant le couplage de deux colonnes capillaires, remonte aux années 1990. Herrainz *et al.* (1990) utilisent cette approche pour la caractérisation d'extraits de Pisco (eau-de-vie de raisin chilienne et péruvienne) tandis



que Martin & Etievant (1991) s'appuient sur cette technique pour la quantification du sotolon dans les vins de Xérès. Fréquemment aussi, la chromatographie bidimensionnelle permet la séparation de formes énantiomères ; c'est le cas, par exemple, de Hollnagel *et al.* (1991) qui l'ont employée pour la séparation du solerone et solerole dans le vin. De plus, elle a aussi été appliquée, avec succès, à l'identification de molécules très odorantes présentes à l'état de traces dans les raisins et les vins (Darriet *et al.*, 2002 ; Campo *et al.*, 2006a ; 2006b ; Pons *et al.*, 2008, Stamatopoulous *et al.*, 2014).

Le principe général de cette technique consiste à sélectionner une fraction mal résolue d'un chromatogramme à la sortie de la précolonne pour la séparer à nouveau sur une colonne aux propriétés différentes. Bien souvent, le choix des colonnes repose sur leur polarité, l'analyste cherche alors une bonne orthogonalité sur ce critère : polaire/apolaire ou apolaire/polaire. Leur dimension est variable et adaptable, mais leur longueur est généralement de 30 ou 50 m avec des épaisseurs de phase pouvant aller jusqu'à 1 µm. Le transfert de la portion choisie du chromatogramme vers la seconde colonne est appelé « heart-cutting ». Il est assuré par des pièces permettant la division physique des flux ou des modules de microfluidiques comme le Dean switch (Sharif *et al.*, 2016). Une cryofocalisation des composés en tête de deuxième colonne permet d'accroître le rapport signal/bruit des pics (Begnaud *et al.*, 2005). De plus, le grand intérêt de cette technique réside surtout dans la possibilité d'un couplage avec l'olfactométrie sur chacune des dimensions selon un ratio de division choisi. Lorsqu'elle est aussi associée à la spectrométrie de masse en sortie de deuxième colonne (**CPG-CPG-O/MS**), elle constitue un excellent outil d'identification des composés odorants. Elle offre en effet la capacité à l'analyste de pouvoir effectuer un ou plusieurs « heart-cutting » sur la base de l'odeur perçue par CPG-O puis de relier cette odeur sur la deuxième colonne à un pic chromatographique éventuellement associé à un spectre de masse interprétable. Le pouvoir séparatif de cette technique permet alors d'accéder à une information initialement masquée à cause des coélutions de pics chromatographiques.

#### **2.2.2.2. La Chromatographie en Phase Gazeuse bidimensionnelle compréhensive ou Chromatographie intégralement bidimensionnelle (CPG x CPG)**

De manière complémentaire à la technique de CPG-CPG « heart-cutting », cette dernière technique permet l'analyse en sortie de la seconde colonne, non pas seulement une part, mais

la totalité des composés élués de la première colonne (Dallüge *et al.*, 2003). Les colonnes employées ont aussi des polarités différentes, mais avec des dimensions beaucoup plus faibles pour la seconde colonne : 1 à 2 m de longueur en moyenne, un diamètre interne compris entre 0,1 et 0,25 mm et une épaisseur de film compris entre 0,1 et 0,2  $\mu\text{m}$ . La pièce maîtresse de ce système de chromatographie est le modulateur qui piège les composés à la sortie de la première colonne pour les transférer dans la seconde selon une fréquence établie par l'analyste. La fréquence ne doit pas être trop faible pour conserver la première dimension ; elle dépend du système et de la matrice à analyser, mais se situe généralement autour de 5 à 10 secondes. Plusieurs types de modulateurs existent, à azote ou à  $\text{CO}_2$ .

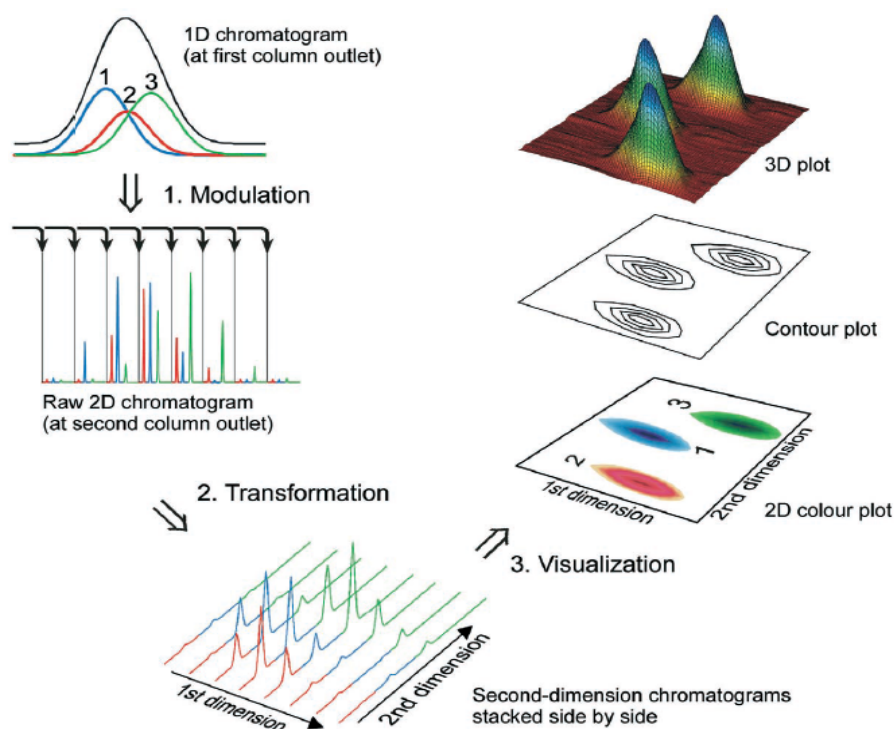


Figure 12. Génération et visualisation d'un chromatogramme en CPGxCPG (Dallüge *et al.*, 2003).

Les systèmes de chromatographie intégralement bidimensionnelle sont généralement couplés à des détecteurs de masse ayant une fréquence d'acquisition élevée (supérieure à 500 Hz), de type temps-de-vol (TOF). En effet, en sortie de la deuxième colonne, les pics chromatographiques sont très étroits (jusqu'à 0,1 seconde). Forte de sa capacité résolutive, la chromatographie intégralement bidimensionnelle, initialement développée par Liu *et al.* (1991) et Bushey & Jorgenson (1990) a ainsi subi un essor important au cours des dernières années (Ong *et al.*, 2002 ; Dallüge *et al.*, 2003 ; Górecki *et al.*, 2004). En outre, cette technique, en

comparaison d'autres systèmes chromatographiques, accroît la sensibilité de détection, la fiabilité de l'analyse quantitative et qualitative et procure une information globale des extraits en un temps limité. Elle serait ainsi susceptible de doubler la quantité d'analytes détectés pour un même extrait (Polášková *et al.*, 2008).

Dans le domaine des arômes du vin, un nombre croissant d'études s'appuyant sur son utilisation ont été publiées depuis une dizaine d'années. Ryona *et al.* (2008 ; 2009 ; 2010) ont utilisé cette technique pour quantifier les méthoxypyrazines dont les teneurs rencontrées dans le raisin et le vin (§ 1.3.1) imposent l'utilisation d'une méthode analytique très sensible. D'autres études ciblées ont été réalisées, sur le carbamate d'éthyle (Perestrelo *et al.*, 2010) ou sur les composés terpéniques du raisin (Rocha *et al.*, 2007). Cette dernière étude atteste bien des capacités résolutes de la technique ayant permis l'identification pour la première fois dans le raisin de 20 monoterpènes parmi un total de 56 terpènes analysés. Plus récemment, l'analyse non ciblée de composés a été réalisée sur des vins issus de protocoles technologiques de microoxygénation (Schmarr *et al.*, 2010), sur des vins de glace (Setkova *et al.*, 2007a ; 2007 b), ou provenant de plusieurs cépages afin d'en apprécier les différences en termes de composition globale (Welke *et al.*, 2012 ; 2013 ; 2014).

Au-delà de sa capacité à améliorer l'analyse qualitative des composés volatils, cette technique, complémentaire de l'approche de CPG bidimensionnelle de type « heart-cutting » peut s'avérer intéressante pour appréhender la composition globale d'un extrait, la classification des composés volatils, la comparaison ou la différenciation de vins, éventuellement en vue d'authentification.

### **2.2.3. La Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)**

Bien que la chromatographie en phase gazeuse soit la technique de choix dans l'analyse des arômes, la CLHP constitue une technique complémentaire, parfois intéressante en vue de la simplification des extraits organiques, parfois comme alternative à la quantification des composés volatils. Cette étape s'intègre dans l'objectif de purification des extraits afin de simplifier la matrice tout en conservant au maximum les composés d'intérêt. La séparation peut s'effectuer sur des colonnes en phase normale avec une série éluotrope de solvants ou en phase inverse (silice greffée). Ainsi, Ferreira *et al.* (1999) ont appliqué la technique de CLHP semi-préparative sur colonne de type silice greffée avec des groupements octadécyles et par

l'utilisation d'un gradient eau/éthanol, en vue du fractionnement d'extraits de vin. Cette technique, facile à mettre en œuvre, présente l'avantage de permettre une caractérisation sensorielle des fractions collectées après séparation chromatographique sans nuisance importante des solvants. Bien que des phénomènes d'adsorption irréversible ou de dégradation soient susceptibles de se produire, et conduire au fait que la reconstitution totale des fractions ne reproduise pas exactement l'odeur initiale du vin, cette approche a prouvé son efficacité dans la mise en évidence de phénomènes d'interactions perceptives entre composés volatils du vin. Par exemple, les tests d'omissions ou de reconstitution à partir des fractions de CLHP ont permis de montrer l'implication d'esters éthyliques d'acides gras (en particulier des formes ramifiées) ou d'acétates d'alcools supérieurs dans des phénomènes d'interactions perceptives conduisant au renforcement de notes fruitées dans des extraits de vins rouges (Pineau *et al.*, 2009 ; Lytra *et al.*, 2012). De même, cette approche s'est avérée très utile dans l'identification de composés d'impact sensoriel par le ciblage olfactif initial des composés volatils contenus dans les fractions (Pons *et al.*, 2008 ; Nikolantonaki & Darriet, 2011 ; Schüttler *et al.*, 2012, Stamatopoulos *et al.*, 2014). La possibilité de travailler sur une portion choisie de l'extrait, exprimant l'odeur recherchée, permet de simplifier la matrice d'étude et diminue ainsi la probabilité de coélutions avec la molécule visée.

S'agissant des méthodes de quantification de composés volatils par CLHP, peu de méthodes sont mentionnées en œnologie. Toutefois, depuis le développement du couplage de la CLHP à des systèmes de détection de masse haute-résolution, certains auteurs ont témoigné du fait que cette technique peut être parfaitement adaptée à la quantification de molécules présentes à des niveaux de concentration extrêmement bas puisqu'ils attestent de limites de détection de 0,03 ng/L pour les méthoxypyrazines (Alberts *et al.*, 2009), inférieure à celles généralement obtenues par CPG-SM (Kotseridis *et al.*, 2008). Enfin, Schmarr *et al.*, (2010) ont également démontré la possibilité intéressante de positionner une étape de séparation en phase liquide en amont d'un système de CPG compréhensive (LC-MDGC).

### **2.3. Exemple de méthodes d'analyse de composés volatils dans le vin : les méthodes de dosage des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines et leur optimisation par l'utilisation des plans d'expérience**

Le dosage des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines dans le vin, compte tenu des faibles concentrations de composé est relativement compliqué et requière l'application de méthodes analytiques optimisées. Ainsi, depuis leur découverte dans les vins (Bayonove & Cordonnier, 1975), la littérature scientifique présente une diversité de méthodes qui ont tenté de doser ces composés en intégrant les exigences de fidélité et de justesse.

Harris *et al.* (1987) puis Allen *et al.* (1991) développent une méthode de quantification des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines basée sur une étape de distillation puis extraction sur une résine échangeuse de cations, élution par un tampon alcalin suivi d'une extraction liquide-liquide avec un solvant. Ils introduisent de manière pertinente l'utilisation de l'homologue deutéré de l'IBMP comme étalon interne. Roujou et Boubée *et al.* (2000) s'inspirent de ce protocole en utilisant une étape de distillation par entraînement à la vapeur. Par la suite, d'autres méthodes ont cherché à optimiser cette méthode fastidieuse par l'introduction d'une extraction par SPE, de type C18 (Pickering *et al.*, 2005) ou Lichrolut (Culleré *et al.*, 2009). En parallèle de cela, d'autres méthodes excluant l'utilisation de solvant ont été développées, une méthode par SBSE (Franc *et al.*, 2009), mais surtout plusieurs méthodes par SPME (Sala *et al.*, 2000 ; 2002 ; Hartmann *et al.*, 2002 ; Chapman *et al.*, 2004 ; Prouteau *et al.*, 2004 ; Ryan *et al.*, 2005 ; Boutou *et al.* 2007 ; Pickering *et al.*, 2008 ; Ryona *et al.*, 2009).

Afin d'atteindre la sensibilité requise, l'extraction par SPME a fait l'objet de couplages spécifiques pour la séparation ou l'analyse. Plusieurs auteurs ont ainsi démontré l'avantage procuré par les techniques de CPG multidimensionnelle (§ 2.2.2) pour accroître la capacité de séparation, augmenter la sensibilité et la sélectivité : CPG-CPG (Culleré *et al.*, 2009 ; Botezatu *et al.*, 2014) ; CPGxCPG (Ryan *et al.*, 2005 ; Schmarr *et al.*, 2010). L'utilisation de détecteurs spécifiques des composés azotés a aussi été mentionnée (Sala *et al.*, 2000 ; 2005 ; Ryan *et al.*, 2005 ; Prouteau *et al.*, 2004). On notera aussi le développement d'une méthode par chromatographie en phase liquide (Albert *et al.*, 2009) voire même d'un couplage en ligne de la chromatographie en phase liquide avec la chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle (LC-CPGxCPG-SM) (Schmarr *et al.*, 2010). Ce type de couplage relève toutefois d'une haute technicité qui la rend difficilement transposable. D'autres auteurs ont fait

le choix de conserver une chromatographie classique (simple dimension), mais d'accroître leur sensibilité et leur sélectivité par l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem (Godelmann *et al.*, 2007 ; Hjelmeland *et al.*, 2012). Les premiers auteurs ont optimisé leur méthode pour quatre méthoxypyrazines (IBMP, SBMP, IPMP, ETMP), mais ont obtenu des limites de quantification assez élevée (33 ; 33 ; 72 et 189 ng/L respectivement), bien supérieure au seuil de détection olfactive de ces composés. L'utilisation d'un spectromètre de masse en tandem ancienne génération (Bear Instruments - (Varian) - Kodiak 1200) en est peut être la cause puisque Hjelmeland *et al.* (2012) obtiennent des résultats très satisfaisants sur l'IBMP avec une limite de détection de 1 ng/L et une limite de quantification de 2 ng/L en milieu modèle de vin par l'utilisation d'un analyseur de type Agilent 7000B à triple quadripôle.

**Les plans d'expérience**, par la possibilité qu'ils offrent de limiter le nombre d'analyses requises pour obtenir une réponse tout en considérant les interactions qui peuvent exister entre les facteurs, sont des outils adaptés aux développements de méthode de quantification. Parmi eux, celui de Box-Behnken (Box & Behnken, 1960), bien que rarement utilisé dans un cadre de développement de méthode pour l'oenologie, représente, selon Ferreira *et al.*, (2007), une alternative intéressante au plan composite centré. Ce plan permet de tester 3 facteurs selon 3 niveaux pour chacun ( $-a$ , 0,  $+a$ ) et ne nécessite que 12 expériences contre 14 pour le plan composite centré. De plus, les études de comparaison de ce plan avec d'autres (composite centré, matrice de Doehlert ou plan factoriel complet à trois niveaux) ont démontré une efficacité légèrement accrue des plans de Box-Behnken et de Doehlert par rapport au plan composite centré et une efficacité très supérieure au plan factoriel complet. Ces derniers sont des plans simples qui permettent d'étudier les effets que plusieurs facteurs peuvent avoir sur une réponse. En faisant varier les niveaux des facteurs simultanément, ils permettent aussi d'étudier les interactions entre les facteurs. Dans le cas d'un plan factoriel complet à 2 niveaux, le nombre d'expériences est de  $2^k$ ,  $k$  correspondant au nombre de facteurs. S'il est donc adapté à un nombre limité de facteurs, il reste cependant peu économe en nombre d'essais. Dans le vin, le plan de Box-Behnken a été utilisé par Martendal *et al.*, (2007) pour optimiser les paramètres SPME (temps et température d'incubation, quantité de sel) concernant le dosage du 2,4,6-trichloroanisole et 2,4,6-tribromoanisole. Ryona *et al.* (2009) l'ont aussi employé avec succès pour optimiser les conditions de température et de temps d'incubation pour la quantification des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines. Prouteau *et al.* (2004) se sont, quant à eux, appuyés sur un plan de Doehlert pour l'optimisation des facteurs pH, temps et température d'incubation pour ces mêmes composés.

### 3. L'ANALYSE SENSORIELLE

#### 3.1. La perception des odeurs

##### 3.1.1. Introduction

L'odorat est souvent négligé par rapport aux autres sens comme la vue et l'ouïe et considéré comme mineur chez l'Homme. Au même titre que les autres, il est pourtant le garant de notre perception du monde environnant, c'est-à-dire de notre capacité à percevoir les objets qui nous entourent et à prendre conscience du réel. Il est donc notre fenêtre sur le monde, celle qui nous permet de comprendre et d'interagir avec notre environnement (Sinding *et al.*, 2012). Malgré le fait que l'odorat chez l'Homme ne soit pas – tant s'en faut – le plus développé des mammifères, il joue un rôle déterminant dans la recherche de nourriture puisque le choix d'un aliment repose principalement sur sa perception olfactive (Fallon & Rozin, 1983). Dans certains cas, il peut prévenir d'éventuels dangers par la perception des désordres odorants de l'environnement. Mais il assure aussi d'autres fonctions plus vitales telles que la reconnaissance du sein de la mère par le nourrisson (Schaal *et al.*, 2009).

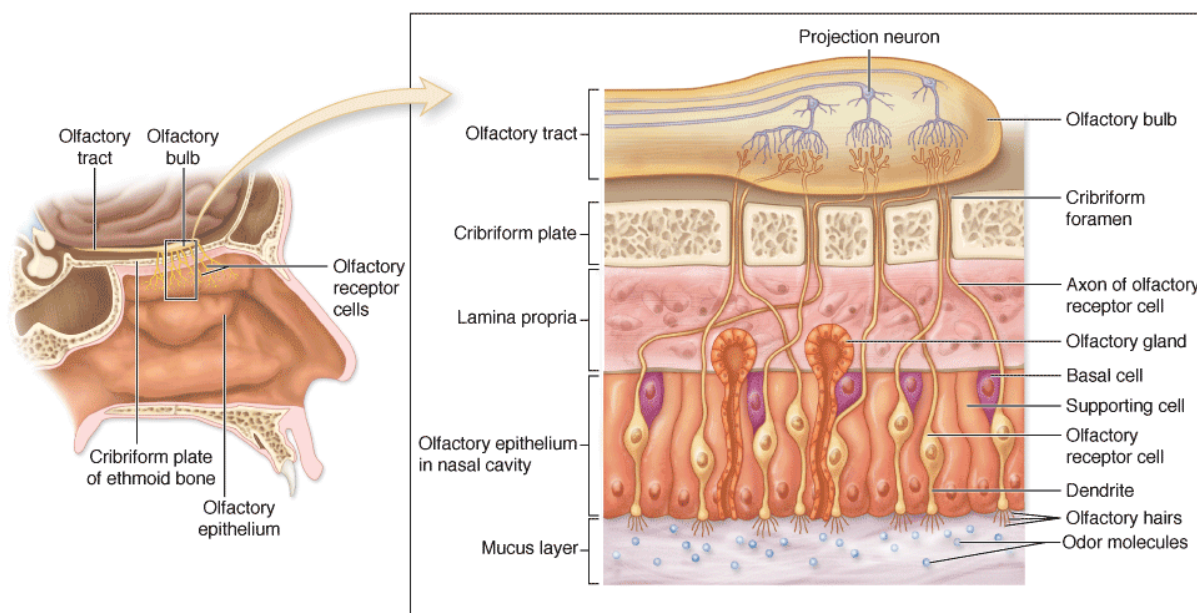
L'odorat relève d'une grande complexité physiologique et constitue un sens extrêmement puissant puisqu'il serait en mesure de détecter, selon des estimations récentes,  $10^{12}$  odeurs différentes (Bushdid *et al.*, 2014) avec une sensibilité parfois bien supérieure à celle des détecteurs physico-chimiques actuels.

##### 3.1.2. Physiologie du système olfactif

Dans un premier temps, deux voies d'accès vers la muqueuse olfactive peuvent être empruntées par un composé volatil, potentiellement reconnu comme stimuli : la voie « directe » (orthonasale) par les narines, la voie « indirecte » (rétronasale) par le carrefour rhino-pharyngé. Dans le premier cas, la norme ISO (ISO 5492 : 2009) recommande d'utiliser la terminologie d'« odeur » perçue tandis que dans le second, c'est le terme « arôme » qui est employé. Les composés chimiques volatils contenus dans l'air inhalé ont d'abord vocation à être solubilisés dans un mucus sécrété par des cellules glandulaires, puis vont atteindre l'épithélium olfactif (EO) contenant les récepteurs olfactifs (RO), eux-mêmes inclus dans la membrane des cils des



neurones olfactifs (NO) qui recouvre l'épithélium du même nom (EO). L'interaction d'une molécule odorante avec un ou plusieurs récepteurs engendrera l'activation des neurones olfactifs puis des glomérules correspondants situés dans le bulbe olfactif (BO). C'est le phénomène de transduction qui pourra ensuite conduire à l'interprétation du flux nerveux par le cerveau comme une odeur (**Figure 13**).



**Figure 13.** Représentation des neurones olfactifs dans la cavité nasale et de la transmission de l'information depuis l'épithélium (EO) jusqu'au bulbe olfactif (BO) (Mescher, 2009).

### 3.1.2.1. La muqueuse olfactive

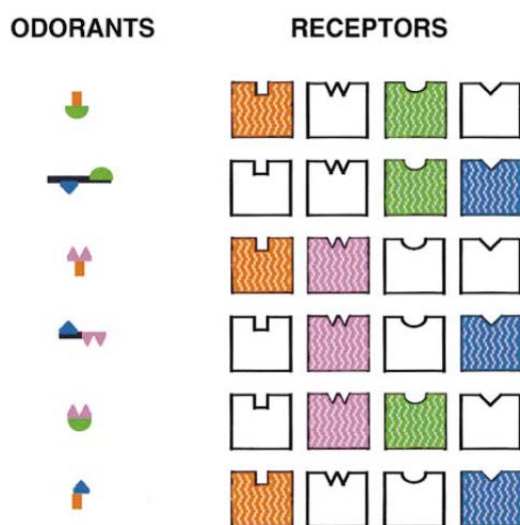
Chez l'Homme, la taille de la muqueuse olfactive est estimée entre 1 et 3 cm<sup>2</sup> (Lanza & Clerico, 1995) avec une épaisseur de mucus de 30 µm environ (Getchell *et al.*, 1988). La capacité de diffusion d'une molécule au travers du mucus va constituer un critère déterminant quant à sa perception, c'est-à-dire sa capacité d'interaction avec un récepteur olfactif. Il est généralement admis que des molécules possédant un caractère hydrophobe assez marqué, un poids moléculaire modéré (< 350 uma) et une pression de vapeur élevée, aient une bonne disposition pour atteindre les récepteurs olfactifs. Cette diffusion au travers du mucus pourrait aussi faire intervenir des protéines de transport (*odor binding protein* ou OBP) (Tegoni *et al.*, 2000). Ces protéines, au-delà de leur rôle de transporteur, moduleraient l'interaction d'un composé avec le récepteur olfactif en agissant comme un filtre qui limite la saturation, mais



aussi en sélectionnant un composé par leur affinité respective avec celui-ci. Certaines études mettent, par exemple, en évidence la forte interaction de l'IBMP avec ces protéines tout en fournissant une modélisation du complexe formé (Staiano *et al.*, 2007 ; Golebiowski *et al.*, 2012). Si le phénomène n'explique pas à lui seul le pouvoir odorant de cette molécule (§ 1.3.1), il ne peut qu'y contribuer.

### 3.1.2.2. Les récepteurs olfactifs

Les récepteurs olfactifs sur lesquels viennent interagir les molécules odorantes ont été identifiés par Linda Brown Bruck et Richard Axel, prix Nobel 2004 (Buck & Axel ; 1991). Ces mêmes chercheurs ont montré qu'ils appartenaient à la famille des récepteurs couplés à la protéine G. Chez les mammifères, un type de récepteur donné est propre à un neurone olfactif (Vassar *et al.*, 1993 ; Ressler *et al.*, 1994. De même, chaque type de récepteur a une affinité particulière avec un stimulus volatil, qui peut lui-même activer plusieurs récepteurs (Malnic *et al.*, 1999). Ainsi, chaque neurone olfactif reconnaît plusieurs molécules odorantes, de même que chaque molécule peut interagir avec plusieurs types de récepteurs. Une spécialisation au sein des récepteurs existe ; certains récepteurs sont très spécialisés et ne fixent qu'un nombre restreint de molécules de structures chimiques particulières tandis que d'autres interagissent avec le plus grand nombre. L'information qui résulte de l'activation des neurones olfactifs est donc de nature combinatoire (Malnic *et al.*, 1999 ; **Figure 14**).



**Figure 14.** Codage combinatoire des composés odorants. Les récepteurs de couleur sont ceux activés par la molécule odorante à gauche (Malnic *et al.*, 1999).

### 3.1.2.3. *Le bulbe olfactif*

Les axones des neurones olfactifs possédant le même récepteur convergent, après avoir traversé la lame criblée, vers une unique (parfois deux) structure synaptique nommée glomérule et localisée dans le bulbe olfactif (BO) (Breer *et al.*, 2003). Chaque glomérule reçoit ainsi la terminaison des axones de plusieurs milliers de neurones olfactifs. L'activation des glomérules, dont l'organisation topologique est stable au sein du bulbe olfactif, forme un motif d'activation spatio-temporel (Duchamp-Viret *et al.*, 1999). À ce niveau, le code combinatoire peut encore être affiné par des activations/inhibitions de voisinage via les cellules périglomérulaires (Kay & Stopfer, 2006) ; ou à plus longues distances par l'intermédiaire des cellules granulaires (Egger *et al.*, 2003). La diversité des combinaisons permises par cette théorie combinatoire expliquerait notre capacité à distinguer un nombre quasi infini d'odeurs.

### 3.1.2.4. *Le cortex cérébral*

Le dernier relai de transmission de l'information vers les structures supérieures du cerveau va être assuré par les cellules mitrales/à panaches qui projettent leurs axones vers le cortex olfactif incluant le noyau olfactif antérieur, le tubercule olfactif, le cortex piriforme, le cortex entorhinal latéral, le cortex amygdalien, etc. (Imai, 2014). Il est intéressant de relever que cette voie sensorielle est la seule qui ne transite pas par le thalamus. Ce lien direct entre le cortex et les signaux émanant du bulbe olfactif évite l'étape de conceptualisation par le néocortex et relie ainsi directement la perception olfactive aux zones cérébrales de la mémoire (Stevenson *et al.*, 2003) ou encore de l'émotion (Herz *et al.*, 2004), respectivement l'hippocampe et l'hypothalamus. D'ailleurs, cette spécificité ne serait-elle pas à l'origine du plaisir et de l'étonnement de Proust face au pouvoir « *immense* » de la dégustation, lui faisant dire « *la vue de la petite madeleine ne m'avait rien rappelé avant que je n'y eusse goûté* » ? (Proust, Du côté de chez Swann, 1913)

## 3.2. Les interactions perceptives

Dans la partie précédente, nous avons décrit des généralités sur les bases physiologiques de l'olfaction. Dans notre vie quotidienne, nous sommes rarement exposés à une unique molécule, mais les odeurs de notre environnement résultent de la perception simultanée de mélanges complexes dont le vin fait intégralement partie.

### 3.2.1. Les mécanismes physiologiques

D'un point de vue physiologique, lorsque plusieurs stimuli résultant d'un mélange complexe arrivent simultanément dans la cavité nasale, il va se produire, sur plusieurs niveaux, un certain nombre de phénomènes qui seront autant de modulateurs de l'odeur globale perçue.

Le premier d'entre eux, si l'on omet les interactions chimiques ou physico-chimiques du mélange, se situe au niveau des récepteurs olfactifs (RO). Plusieurs auteurs ont en effet mis en évidence la possibilité d'actions agonistes et antagonistes quant à l'interaction des molécules odorantes au niveau du site actif du récepteur (Sanz *et al.*, 2008 ; Brodin *et al.*, 2009). Le second siège de ces phénomènes est le bulbe olfactif (BO) lui-même avec un certain nombre d'inhibitions glomérulaires qui peuvent se produire par l'intermédiaire des cellules périglomérulaires (Kay *et al.*, 2005 ; Valova *et al.*, 2007). Enfin, le dernier niveau d'interaction se produit dans le système nerveux central où le niveau d'excitation, d'attention, ainsi que d'autres facteurs peuvent modifier l'information sensorielle (Le Berre *et al.*, 2008)

### 3.2.2. La perception d'un mélange d'odeur

Les phénomènes physiologiques qui restent à ce jour assez mal compris vont se traduire, sur le plan de la perception, par l'existence d'interactions ayant fait l'objet de caractérisations importantes au cours des dernières années (Thomas-Danguin *et al.*, 2014), et particulièrement en ce qui concerne les mélanges binaires de molécules odorantes. Dans ce dernier cas, deux types de variations peuvent se produire sur l'odeur du mélange par rapport à la perception individuelle des composés odorant : des changements de nature qualitative (**Figure 15**) ou quantitative (**Figure 16**).

### 3.2.2.1. *La modulation qualitative*

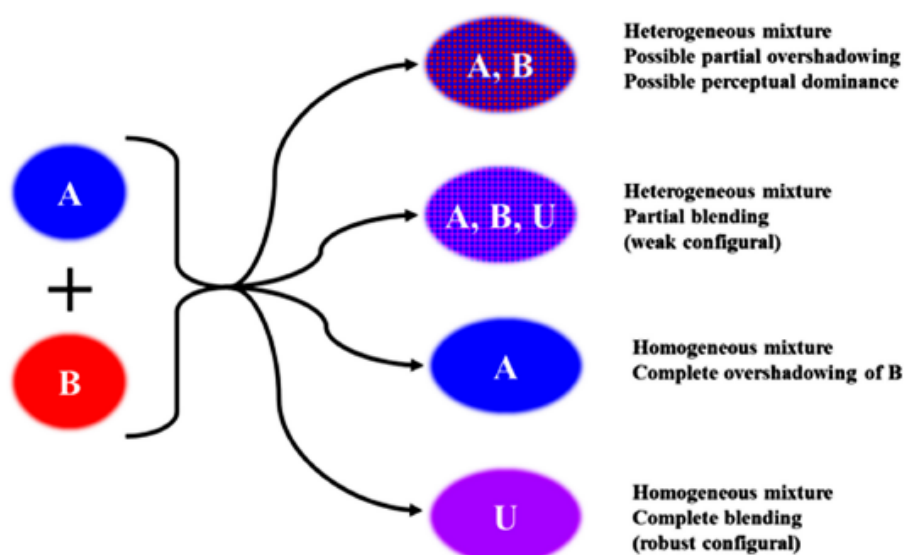
Berglund *et al.*, (1976) ont défini qu'un mélange peut être qualifié d'« **homogène** » lorsqu'une seule odeur s'en dégage. Celle-ci peut résulter de la fusion complète de deux molécules odorantes qui forment une nouvelle odeur, bien que ce cas reste assez extrême (Laing *et al.*, 1984). Dans ce cas de figure, la perception du mélange est alors considérée comme **synthétique** (Berglund & Olsson, 1993 ; Laing, 1994). Un mélange dont l'un des composés au fort pouvoir odorant l'emporte sur les autres composés, par des phénomènes de recouvrement total ou de masquage, peut aussi être qualifié d'homogène (Kay *et al.*, 2005 ; Cain & Drexler, 1974), rejoignant l'idée de Laing *et al.*, 1984 selon laquelle, dans un mélange inégal, c'est l'odorant le plus fort qui prédomine ou qui peut même être le seul perçu.

Par contraste, un mélange est dit « **hétérogène** » lorsqu'au moins l'un des composants peut être discerné de l'ensemble. Berglund *et al.* (1976) montrent que l'odeur est généralement semblable à au moins l'une de celles des deux constituants. Elle est, de plus, généralement gouvernée par le composé dont le pouvoir odorant est le plus fort (Laing *et al.*, 1984), bien que des modulations par des phénomènes de masquage partiel peuvent se produire (Kay *et al.*, 2005). Dans le cas d'un mélange hétérogène, la perception qui est en résulte peut être, cette fois, considérée comme **analytique** (Berglund & Olsson, 1993). Il est aussi possible que le mélange des composés odorants conduise à l'apparition d'une troisième odeur, en supplément de leurs odeurs respectives (Kay *et al.*, (2005). Enfin, on notera que dans le cas des mélanges complexes, la qualité de l'odeur du mélange est plus fréquemment différente de la qualité des molécules odorantes qui le constitue. « *En d'autres mots, un mélange complexe est plus enclin à évoquer la perception d'une nouvelle odeur* » (Thomas-Danguin *et al.*, 2014).

Plusieurs mécanismes orientent le type de perception d'un mélange. Bien que cela n'ait pas été entièrement établi, certains auteurs suggèrent que les interactions agonistes/antagonistes au niveau du récepteur olfactif (RO) pourraient, par la perte d'information qu'elles engendrent, favoriser une perception synthétique du mélange (Sanz *et al.*, 2008 ; Brodin *et al.*, 2009). Contrairement à ce qu'on pourrait imaginer, d'autres études ont montré qu'une analogie dans la structure chimique des deux composés en mélange ne favoriserait pas systématiquement la perception synthétique de celui-ci. L'exemple le plus illustratif de ce phénomène est l'expérience du mélange de stéroisomères du limonène (+/- limonène) et de la carvone (+/- carvone) ; le premier formant un mélange perçu de façon synthétique tandis que le second l'est de manière analytique (Wiltout *et al.*, 2003). Au niveau neurophysiologique, ce phénomène se

traduit par des profils d'activation bulbaire avec un fort taux de recouvrement dans le cas des stéroisomères du limonène et bien différenciable dans le cas de la carvone (Linster *et al.*, 2001). À ce niveau, la modulation par les activations/inhibitions interglomérulaires apparaît jouer un rôle majeur dont l'illustration de ce phénomène a été réalisée sur les abeilles par Joerges *et al.* (1997) qui montrent que la somme théorique des profils d'activation glomérulaires diffère de ceux obtenus réellement pour le mélange (citrал/hexanol) : suractivation de certains glomérules, forte inhibition d'autres. Cette perte d'information engendrée par l'inhibition latérale pourrait donc bien favoriser la perception synthétique. De la même manière, Wiltrout *et al.*, 2003 mettent en évidence qu'une similitude dans l'odeur des molécules en mélange est un facteur qui tend à favoriser la formation d'un mélange homogène, et donc une perception synthétique. Toutefois, une théorie soutenue par Frederick *et al.* (2009) affirme que la perception de deux composés aux profils d'activation bulbaire recouvrants n'est pas synthétique, mais qu'elle correspond simplement à la perception simple d'un des deux composés dont la concentration serait doublée.

D'autres suggèrent enfin l'existence d'un codage temporel au niveau du récepteur olfactif, lui-même dépendant de la molécule et de sa concentration. Ainsi, l'augmentation du délai de fixation entre deux composés odorants sur le récepteur pourrait faciliter leur distinction, et donc la perception analytique du mélange (Jinks & Laing, 1999 ; Laing *et al.*, 1994).



**Figure 15. Résultats théoriques sur la qualité de l'odeur (modification qualitative) d'un mélange de deux odorants (Thomas-Danguin *et al.*, 2014).** *A* représente l'odeur du premier composé, *B* l'odeur du second et *U* l'odeur spécifique du mélange.

### 3.2.2.2. *La modulation quantitative*

En parallèle de ces phénomènes de modification de la qualité de l'odeur que nous venons d'énoncer, il en existe d'autres qui vont engendrer des modifications de nature quantitative (**Figure 16**). La classification des effets quantitatifs, qui repose sur les travaux de Cain et Drexler (1974), ainsi que sur ceux de Berglund *et al.* (1976), distingue les mélanges homogènes des mélanges hétérogènes.

Dans le cas des mélanges **homogènes**, l'intensité du mélange peut être égale (***addition complète***), plus grande (***hyper-addition***) ou plus faible (***hypo-addition***). Dans ce dernier cas, les auteurs ont décliné plusieurs configurations : celle où l'intensité du mélange est plus grande que celles de chacune des composantes (***addition partielle***), intermédiaire entre les intensités de chacune de ses composantes (***compromis***) ou plus faible (***soustraction***).

Pour ce qui concerne les mélanges **hétérogènes**, il est possible de différencier le cas où l'intensité d'un composé dans un mélange est identique (***indépendance***), plus grande (***synergisme***) ou plus faible (***antagonisme***) que celle hors du mélange.

Aussi, il est possible d'adjoindre deux notions supplémentaires apportées par Berglund & Olsson (1993) : le ***niveau d'indépendance*** et l'***asymétrie***. La première traduit le degré de variabilité du processus d'addition selon l'intensité odorante des composés. En d'autres termes, un haut niveau d'indépendance signifie que le mélange entre deux odeurs A et B de faibles intensités conduit au même degré d'additivité que ces mêmes odeurs à fortes intensités. La seconde, l'asymétrie, suggère qu'un mélange entre la substance A de forte intensité et la substance B de faible intensité n'a pas la même intensité que le mélange réalisé dans les proportions inverses.

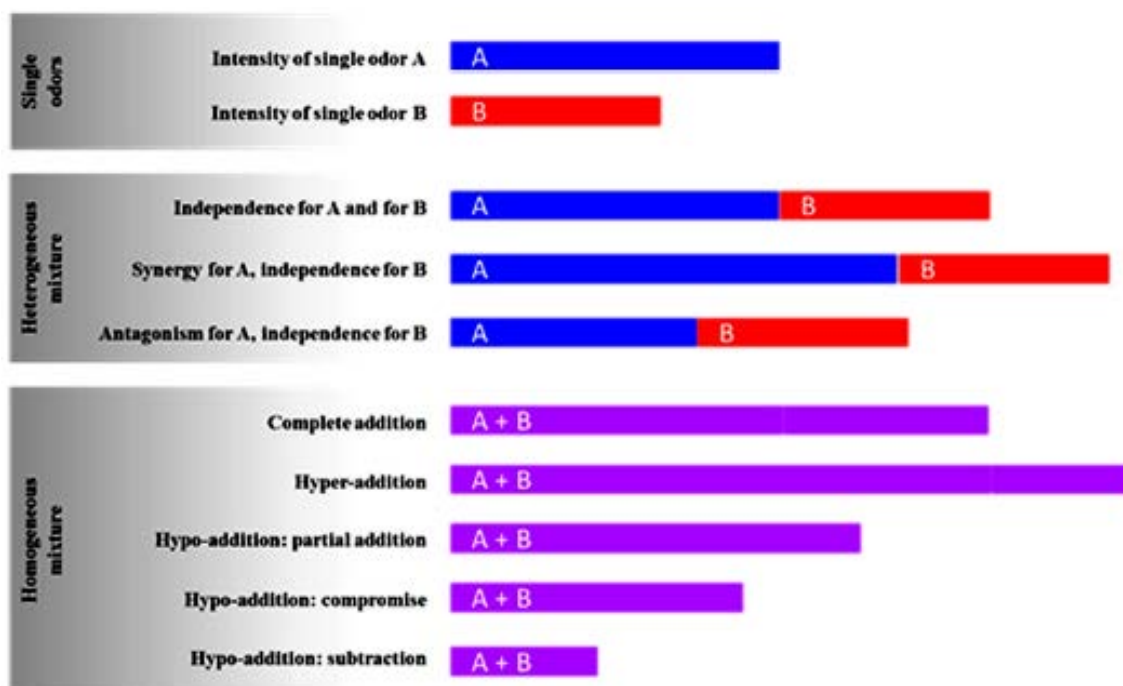


Figure 16. Résultats théoriques sur l'intensité de l'odeur (modification quantitative) d'un mélange de deux composés odorants (Thomas-Danguin *et al.*, 2014). A représente l'odeur du premier composé odorant, B l'odeur du second.

La tendance résumée par Ferreira *et al.*, (2012) au regard des études sur les mélanges binaires montre une orientation très favorable vers l'effet d'hypo-addition, de compromis et de soustraction. En d'autres termes, l'intensité du mélange est très souvent inférieure à l'intensité du composé le plus odorant. D'un point de vue physiologique, les mêmes phénomènes qui régissent les modulations qualitatives de l'odeur en sont très probablement l'explication.

On ajoutera qu'il n'est pas toujours aisé, sur le plan expérimental, de distinguer la nature homogène ou hétérogène d'un mélange. Ainsi, malgré la distinction lexicale sur les phénomènes perceptifs qui les animent, beaucoup d'études tendent à employer indifféremment les termes d'« hyper-addition » et d'« additivité » (propre au mélange homogène) ou de « synergie » (propre au mélange hétérogène).

On rappellera enfin que la capacité de distinction chez l'Homme n'excède que difficilement plus de trois molécules dans un mélange complexe supérieur à 8 molécules, au-delà, la perception ne peut être que synthétique ; le mélange rejoignant alors le concept d'« objet odorant » (Laing & Francis, 1989 ; Livermore & Laing, 1998a).

### 3.2.3. Les interactions perceptives en Œnologie

#### 3.2.3.1. Généralités

L'arôme du vin tel que nous le percevons résulte du mélange d'une multitude de molécules odorantes aux propriétés physico-chimiques très diverses. Ainsi, son bouquet, résulte à l'évidence de phénomènes d'interactions perceptives complexes autour de phénomènes de perceptions synthétiques/analytiques avec des dizaines, voire des centaines de composés à l'odeur agréable, fruitée et florale, mais aussi de composés présentant une odeur déplaisante. Les accords odorants formés dans le mélange reposent donc sur de subtils équilibres entre les molécules et sont à la base de l'objet odorant que nous percevons et de ses nuances.

La multitude des interactions perceptives susceptibles de se produire dans une matrice aussi complexe que le vin rend quasiment vaine toute tentative de prédiction de l'odeur puisque la perception globale ne peut en aucun cas être considérée comme la somme des perceptions des composés individuels. Godinot (1999) montre que si, dans un mélange, certains composés peuvent imposer leur odeur, d'autres, en revanche, seront peu perçus. Ainsi, les modèles de prédictions proposés à ce jour peinent à anticiper les paramètres de sensorialité des mélanges de composés volatils. Le modèle réfuté d'Olsson (1998), qui spécifie que l'intensité et la qualité d'un mélange peut se prédire à partir de celles des composés odorants pris séparément, en constitue une illustration.

De même, les approches développées autour de la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O) pour hiérarchiser les molécules odorantes d'une matrice complexe ne peuvent permettre de conclure quant à l'impact réel d'un composé dans le mélange et doivent, pour cela, être nécessairement complétées par des analyses sensorielles dans la matrice considérée, en l'occurrence le vin.

Dans le domaine de l'œnologie, la connaissance de ces phénomènes d'interactions perceptives est assez ancienne puisque, dans les années 70, Ribéreau-Gayon *et al.* (1975) avaient déjà observé des effets synergiques (additifs) entre des monoterpènes du vin. Ils avaient ainsi montré qu'un mélange de 8 composés de cette famille présentait un seuil de détection olfactive inférieur au seuil de détection olfactive du plus faible des composés dans le mélange. Plus récemment, ce thème s'est développé autour de recherches ayant pour objectif de comprendre les phénomènes à l'origine des modulations d'odeurs fruitées dans les vins de



Bordeaux (Pineau *et al.*, 2009 ; Sarrazin *et al.*, 2007 ; Lytra *et al.*, 2012 ; Stamatopoulos *et al.*, 2014).

### 3.2.3.2. *Exemple d'interactions perceptives pouvant contribuer à moduler les nuances « végétales »*

De plus, un certain nombre d'études ont recensé des cas similaires d'interactions qui conduisent à des modulations (effet qualitatif) ou au renforcement (effet quantitatif) des odeurs végétales dans les vins.

Par exemple, Marais *et al.* (1999) ont considéré le mélange binaire de deux composés au fort pouvoir odorant du Sauvignon blanc, l'IBMP et la 4-MSP. L'étude de plusieurs combinaisons de concentrations entre ces deux molécules a permis d'estimer les changements qualitatifs de ce mélange hétérogène dans lequel l'IBMP contribue à des notes d'herbe/poivron et la 4-MSP à des nuances de goyave, soufrée, urine de chat. Le même type d'étude entre l'IBMP et le 3-SH a confirmé les aspects qualitatifs du mélange tout en montrant, sur le plan quantitatif, un effet d'antagonisme entre ces deux molécules (Wyngaard *et al.*, 2014). Ainsi, les caractères « fruits de la passion », « tropical », « pamplemousse » et « goyave » apportés par le 3-SH sont diminués par des ajouts respectifs de 0,5 ; 1 ; 2 et 15 ng/L d'IBMP. Cet antagonisme est aussi confirmé sur un mélange de thiols (3-SH, A-3SH, 4-MSP), bien que les thiols et l'IBMP aillent chacun dans le sens de l'augmentation de l'odeur « légume vert cuit ». La capacité des thiols à accroître ce type d'odeur semble reliée à la forme dominante d'énantiomère S dans le mélange (King *et al.*, 2011). Coetzee *et al.* (2015) étudient les effets d'un mélange plus complexe sur le vin : IBMP, 3-SH, méthional et phénylacétaldéhyde ; les deux derniers composés étant liés à une évolution oxydative du vin blanc. Ils confirment la capacité de l'IBMP à impacter négativement sur le descripteur « goyave mûre », mais ils montrent aussi que l'IBMP peut contribuer à accroître la nuance « goyave verte » ou « feuille de tomate » apportée par le 3-SH ; de même que, réciproquement, ce dernier peut contribuer à renforcer l'odeur de « poivron vert » de l'IBMP. Ces mêmes auteurs démontrent surtout une synergie entre l'IBMP et le méthional à l'origine d'une odeur « patate bouillie/haricot vert cuisiné ».

À l'inverse de ce phénomène, les mêmes auteurs ont aussi mis en évidence un antagonisme perceptif entre l'IBMP et le produit d'oxydation de l'éthanol, l'acétaldéhyde. En outre, le mélange des deux odorants conduit aussi à moduler l'odeur initiale de pomme blette

de l'acétaldéhyde vers la pomme verte fraîche (Coetzee *et al.*, 2016). Toujours en ce qui concerne l'IBMP, Escudero *et al.* (2007) suggèrent un trio d'interactions perceptives entre l'IBMP et le (Z)-3-hexenol et l'hexanol; cette configuration permettant d'accroître significativement l'odeur végétale de « poivron vert » de l'IBMP dans les vins.

De la manière, San Juan *et al.* (2011) mettent en exergue qu'une combinaison du sulfure de diméthyle (DMS), de l'hexanol et du methanethiol conduit à la formation d'une odeur végétale de type « légumes et chou », différente de l'odeur individuelle de truffe, d'herbe coupée et de chou de ces composés. Ils supposent ainsi que cette configuration peut expliquer l'odeur végétale perçue pour certains des 25 vins rouges espagnols analysés.

À la vue de ces différentes études, il apparaît clairement que les phénomènes d'interactions perceptives, susceptibles de se produire dans le vin par la complexité de la matrice qu'il forme, sont – indiscutablement – autant de clefs de compréhension des nuances aromatiques que notre perception olfactive nous renvoie, et avant toute chose de celle qui nous concerne : la famille aromatique du descripteur « végétal ».

### **3.3. L'évaluation sensorielle**

#### **3.3.1. Introduction**

L'évaluation sensorielle constitue un élément indissociable de l'œnologie ; elle est le lien direct qui relie la science, la technique, et le consommateur. La problématique scientifique naît le plus souvent d'une observation sensorielle, et la découverte se valide en retour par cette même observation. Elle est le point final d'une démarche vers la connaissance, celle-là même qui permet d'atteindre un projet esthétique par la maîtrise qu'elle procure. Elle constitue aussi une approche analytique que Peynaud & Blouin (2006) rappellent ainsi : « *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.* »

L'évaluation sensorielle va ainsi se poser en un outil multifacette qui s'adaptera en fonction d'une problématique donnée. Trois types d'épreuves peuvent être distingués : les épreuves discriminatives, descriptives et hédoniques. Les deux premières seront utilisées pour la quantification, la qualification et la détermination de l'existence de différences entre les

produits tandis que la dernière, l'épreuve hédonique, ciblera plutôt l'appréciation du consommateur (Martin & de Revel ; 1999).

### 3.3.2. Les notions d'évaluation qualitative et quantitative

L'*évaluation quantitative* d'une odeur est l'estimation de l'intensité de la perception olfactive qu'elle procure. Sauvageot (1990) définit 4 domaines : *infraliminaires*, où la perception appartient au bruit de fond ; *liminaire*, où la perception peut être nette ou confuse ; *supraliminaires*, où l'intensité augmente proportionnellement à la concentration du stimulus ; *saturation*, où l'intensité atteint son niveau maximal, pratiquement invariable.

Le *seuil de perception*, ou *seuil de détection*, ou *seuil d'apparition* constitue la valeur minimale du stimulus sensoriel nécessaire à l'éveil de la sensation qui ne peut pas être identifiée ; il se situe dans la zone *liminaire*. Le *seuil de reconnaissance*, ou *seuil d'identification* constitue la valeur minimale du stimulus sensoriel permettant d'identifier la sensation perçue ; il se situe dans la zone *supraliminaires*.

L'*évaluation qualitative* d'une odeur regroupe des épreuves de *reconnaissance* dans lesquelles le sujet doit reconnaître une odeur qu'il connaît grâce à sa mémoire épisodique ; des épreuves d'*identification* où un même sujet doit nommer la sensation que lui procure un stimulus en faisant appel à sa mémoire sémantique.

### 3.3.3. Les épreuves sensorielles

#### 3.3.3.1. Les épreuves discriminatives

Les tests de discrimination sont utilisés pour examiner l'existence de différences sensorielles entre deux ou plusieurs produits. Le plus souvent, ces différences sont très faibles et la différence estimée est globale, elle n'est ni identifiée ni quantifiée. Cette caractéristique permet de s'affranchir d'un entraînement préalable des dégustateurs (Martin & de Revel ; 1999). Le principe repose donc sur la présentation d'échantillons au panel parmi lesquels certains sont identiques, d'autres différents. Le dégustateur doit alors détecter le produit qui diffère des autres. Une réponse étant imposée au sujet, l'épreuve est dite à « choix forcé ».

Parmi ces épreuves, celle qui est la plus utilisée est « l'épreuve triangulaire » ou « test triangulaire ». Elle consiste à confronter les dégustateurs à 3 échantillons dont 2 sont identiques (NF EN ISO 4120 : 2007) selon les différentes combinaisons possibles. Chaque juge doit alors mentionner l'échantillon qui lui paraît être différent des autres. L'interprétation statistique de ce test est donnée par une loi binomiale qui permet de conclure quant à la significativité de ce test au vu du nombre de réponses correctes par rapport au nombre de réponses totales, pour un risque  $\alpha$  donné et en considérant les réponses correctes dues au hasard.

La détermination des seuils de perception repose, en outre, sur une succession croissante de tests triangulaires.

### 3.3.3.2. *Les épreuves descriptives*

Les épreuves descriptives sont différentes des épreuves discriminatives puisqu'elle ne s'intéresse pas uniquement à la différence entre des échantillons, mais aussi à la nature de ces divergences. Par conséquent, elle s'applique à des produits qui présentent des écarts sensoriels nettement perceptibles. Sa mise en œuvre requiert ainsi un panel entraîné vis-à-vis des critères sensoriels étudiés (Martin et de Revel, 1999). Deux types d'épreuves descriptives peuvent être distingués selon qu'elles évaluent un ou plusieurs critères.

S'agissant des premières, l'entraînement du panel est simplifié puisqu'il est réduit à une seule grandeur sensorielle. On distingue ainsi les *épreuves de classement*, qui consistent à établir un ordre d'intensité du critère demandé sur les échantillons, des *épreuves de notation simple*, qui consiste à comparer l'intensité du critère en s'appuyant sur une échelle de notation.

Les secondes, qui évaluent simultanément plusieurs descripteurs, permettent d'établir des *profils sensoriels*. Cette évaluation est un processus complexe qui nécessite de faire appel à des dégustateurs experts et de préférence entraînés sur les descripteurs donnés.

Dans chacun des cas, le traitement des données est réalisé par des outils statistiques adaptés au type d'épreuve et à la réponse souhaitée.

### 3.3.3.3. *Les épreuves hédoniques*

L'évaluation hédonique est reliée à la dimension « plaisir » du consommateur. À l'inverse des autres, ce test va préférer les sujets novices, appartenant à une tranche de consommateur donnée, aux sujets experts dont la focalisation et l'entraînement sur le défaut engendreront des réponses peu représentatives de la préférence générale des consommateurs.

### 3.3.4. Les facteurs conditionnant le résultat de l'évaluation

L'évaluation sensorielle est une pratique difficile puisqu'elle peut être soumise à un grand nombre de facteurs de variation. Si l'on souhaite l'utiliser comme un outil d'analyse scientifique et pouvoir se livrer à une interprétation correcte des résultats, il est indispensable d'avoir connaissance de ces facteurs de variations.

La première des variabilités intervient sur l'*individu* lui-même, et déjà dans sa génétique ; c'est le cas des anosmies par exemple (Amoore *et al.*, 1968). La sensibilité des sujets va également subir une décroissance avec l'âge après 60 ans (Cain & Gent ; 1991 ; Thomas-Dangin *et al.*, 2003), avec des régimes hyper lipidiques (Thiebaud *et al.*, 2014), un état de satiété (Stafford *et al.*, 2011) ou même dans le cas de pathologie comme la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie ou la migraine (Sohrabi, *et al.*, 2012 ; Demarquay *et al.*, 2006 ; Nguyen *et al.*, 2010 ; Stevenson *et al.*, 2013). Certaines études montrent aussi l'effet du sexe, avec une sensibilité généralement supérieure pour les femmes (Doty & Cameron ; 2009). La capacité d'identification relève aussi de facteur socioculturel (Gilbert & Wuysocki ; 1987), en lien avec la familiarité du produit.

S'agissant de l'expertise telle que nous l'avons défini (§ 1.2.1), elle ne permet pas d'accroître la sensibilité olfactive absolue (Bende *et al.*, 1997 ; Parr *et al.*, 2002). En revanche, un panel d'experts présente généralement des capacités accrues en termes de consensus (Wolters *et al.*, 1994, Labbe *et al.*, 2004), de capacité de discrimination (Bende *et al.*, 1997), de mémorisation (Parr *et al.*, 2002 ; 2004) ou encore de verbalisation (Chollet & Valentin, 2000 ; Valentin *et al.*, 2003). De plus, des études suggèrent que les deux dernières capacités seraient intimement mêlées puisque cette meilleure précision dans le système verbal permettrait d'expliquer la supériorité des experts vis-à-vis de la mémorisation malgré une sensibilité absolue qui ne varie pas (Melcher *et al.*, 1996).

Ces différentes capacités sont donc évolutives et peuvent être accrues de manière significative par l'apprentissage (Tempère *et al.*, 2011 ; 2012).

L'*environnement* de la dégustation peut aussi être source de variabilité et s'avérer déterminant dans la validité des résultats. Afin de minimiser les biais, la salle de dégustation doit être en mesure d'offrir des conditions constantes et contrôlées (AFNOR NF V 09-105 : 1987) : éclairage, température, hygrométrie, bruit, odeur parasite. L'utilisation de verres à la géométrie normalisée (INAO ISO 3591 : 1977) limitera aussi la variation de coefficient de partage des molécules (Fischer & Loewe-Stanienda, 1999).

La température du mélange lors de son évaluation est aussi un critère important puisqu'elle a une influence directe sur la volatilisation des composés dont chacun possède une température de volatilisation qui lui est propre (à pression constante). Sa variation entraînera très probablement le changement d'odeur du mélange en favorisant la perception de molécules odorantes par rapport à d'autres ; phénomène d'ailleurs bien connu empiriquement lors de la dégustation des vins (Peynaud & Blouin, 2006).

Enfin, d'autres facteurs susceptibles peuvent influencer sur la pertinence des résultats : la taille du panel ; l'hétérogénéité des échantillons présentés, particulièrement importants dans le cas des épreuves discriminatives ; le nombre d'échantillons, un excès entraînant fatigue et lassitude de la part du dégustateur ; l'ordre de présentation, une présentation linéaire étant susceptible d'engendrer des effets « série » ; mais aussi la fiche d'évaluation elle-même par le type d'échelle utilisée (continue ou discontinue).

## 4. LA NOTION DE TYPICITE

### 4.1. Définition du concept

La typicité est un concept qui est au cœur de la définition de l'Appellation d'Origine Protégée (AOP) telle qu'elle est définie par l'INAO et qui « *désigne un produit dont les principales étapes de production sont réalisées selon un savoir-faire reconnu dans une même aire géographique, qui donne ses caractéristiques au produit* » ; la zone géographique en question étant elle-même indissociable du concept de terroir établi comme « *une zone géographique particulière où une production tire son originalité directement des spécificités de son aire de production. Espace délimité dans lequel une communauté humaine construit au cours de son histoire un savoir-faire collectif de production, le terroir est fondé sur un système d'interactions entre un milieu physique et biologique, et un ensemble de facteurs humains. Là se trouvent l'originalité et la **typicité** du produit* ».

L'essor de son utilisation dans le langage courant, notamment en œnologie, est peut-être le signe de la recherche par les producteurs d'une forte identité de leurs vins, qu'ils souhaitent être l'expression d'un lieu et d'un savoir-faire unique, inimitable, reconnaissable par l'amateur. Elle se joint ainsi à une vision européenne de la qualité – traditionnelle – et qui distingue le vin d'une denrée alimentaire par l'essence historique et culturelle qu'il porte.

Pour comprendre ce concept qui apparaît parfois comme flou, revenons sur sa genèse et son évolution jusqu'à aujourd'hui.

Paradoxalement, l'utilisation du terme « typicité » est assez récente puisque son intégration au Nouveau Petit Robert ne date que de 1993 où il 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.* ». Ce néologisme qui dérive du terme anglo-saxon « typicality », renvoie directement à la définition de l'adjectif « typique » qui définit « *un modèle idéal, un exemple caractéristique* », mais aussi au « type » comme « *catégorie [de produits] formant une unité dont les caractéristiques sont reconnues par un groupe [groupe humain de référence]* » (Noël et al., 2005).

Son usage semble bien être né de l'œnologie avant de suivre l'extension qu'on lui connaît aujourd'hui. D'après Salette (1997), le terme de « typicité » a été employé dès 1979 par des

chercheurs de l'INRA d'Angers afin de caractériser et comparer des vins expérimentaux issus de différents terroirs. Il apporte lui-même une définition : *« la forme idéale qui réunit au plus haut degré, les propriétés, les traits, les caractères essentiels (...) d'une catégorie »*.

Plusieurs points de vue sur la sémantique œnologique du terme ont été formulés et constituent autant de nuances quant à son usage. La définition selon Salette (1997) ramène bien à celle du « type », c'est-à-dire à l'idée de catégorie et au degré de représentativité d'un objet dans cette même catégorie. Sauvageot (1994), en revanche, introduit dans sa définition les notions de spécificité, de singularité ou d'originalité. Il est rejoint par Dubourdieu (2007) qui définit qu'un vin typique doit présenter les caractères des 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 »*. Pour Giraud (2003 et 2004), la typicité est donc *« une notion qui hésite entre le monde de la production, dont elle est originaire, et celui de la consommation, où elle opère »*. Dans le premier cas, il s'agit bien d'un trait de caractère distinctif, fondé sur une entité, le terroir, qui intègre bien cette notion d'originalité ; tandis que dans le second cas, cette notion se joint à celle du « type », et donc à la représentativité d'un objet au sein de sa catégorie. Afin de différencier ces deux notions, l'auteur établit une distinction par le terme de « typicité » et par celui de « typicalité » utilisé en psychologie cognitive pour désigner les représentations mentales des sujets. Si le premier correspond plutôt à une réalité physique et à un archétype, le second s'associe au stéréotype. Ballester (2004) ajoute que ces termes sont toutefois équivalents et que seul leur domaine d'application diffère selon l'usage. Il offre cette définition de la typicalité qui *« serait un concept de psychologie cognitive que l'on pourrait résumer par la représentativité d'un objet dans une catégorie. »*

S'agissant enfin de la relation de ce concept avec le terroir, Barjolle (1998) souligne que la typicité est avant tout liée à celui-ci : *« Les caractéristiques d'un produit sont typiques, et non pas seulement spécifiques, si elles sont tributaires d'un lieu, si elles ont un lien au terroir, si elles résultent de conditions de production localisées. La typicité est un héritage, elle a une origine géographique et historique, elle est ancrée dans un milieu »*. Casabianca et al. (2006) ne sont cependant pas aussi restrictifs et précisent que *« parmi les multiples expressions de la typicité, la typicité liée au terroir est une construction particulière qui concrétise l'effet du terroir sur un produit donné »*.

Rappelons enfin que deux produits typiques d'une catégorie ne sont en rien similaires. Appliqué aux champs de l'œnologie, cela signifie qu'un vin peut être qualifié de « typique » de



son terroir, de son cépage, de la modalité technologiques duquel il est issue, etc., et en même temps présenter des différences avec les autres représentants, les autres « types », de sa catégorie. En d'autres termes, deux vins « typiques » d'une même catégorie ne sont donc pas identiques et ce qualificatif ne leur enlève en rien leur personnalité ; au contraire, il l'affirme même dans un ensemble plus large. Salette (2006) résume bien ce propos : « *estimer qu'un vin est typique, ce n'est pas exiger sa correspondance à un standard fixe, c'est simplement le reconnaître comme faisant partie d'une même famille.* » Cadot (2006) explique la variabilité d'une appellation ainsi : « *cette typicité est plurielle, puisqu'au sein d'une même appellation, il peut exister des divergences, par exemple liées à l'apparition d'une nouvelle technique. De même, elle évolue en fonction des tendances, de la mode ou de la pression des autres acteurs de la filière, distributeurs et consommateurs. Il n'empêche qu'il est du ressort de la collectivité vigneronne de définir si le vin est conforme aux critères sensoriels souhaités à un moment donné* » tout en rappelant que cette notion n'est pas toujours synonyme de qualité « *un produit typique n'est pas synonyme de produit de qualité : un produit "bien fait" peut ne pas être typique, de la même manière, certains défauts du "standard" peuvent faire la typicité* ».

## 4.2. Exemple d'études sur la typicité des vins

Suivant l'imprégnation de ce terme dans le langage commun de l'œnologie, un nombre croissant d'études se sont développées autour de ce concept. Une recherche des mots clefs « wine », « typicality » et « typicity » sur un moteur scientifique illustre bien ce phénomène.

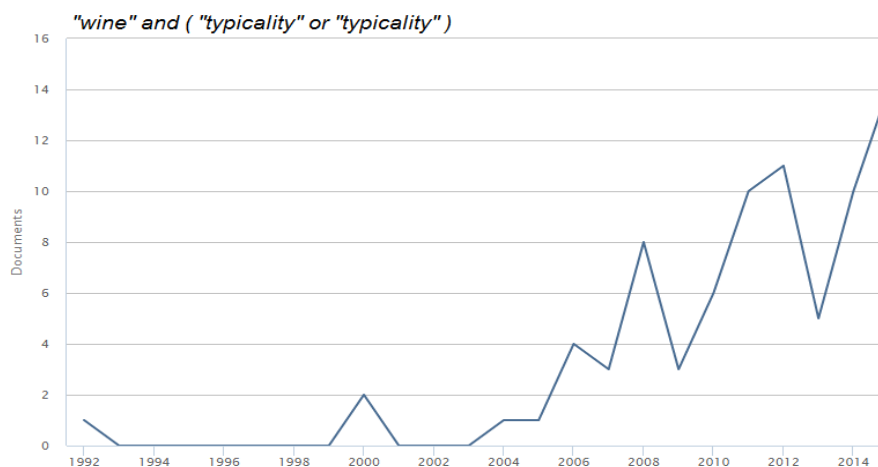


Figure 17. Nombre de publications scientifiques associées aux termes « vin », « typicité » ou « typicality » sur une période 1992-2015 obtenu à partir du moteur de recherche Scopus.

Des travaux de caractérisation physico-chimiques et sensoriels de certaines catégories du vin ont d'abord été réalisés. Augris *et al.* (1994) ont ainsi étudié ces critères sur l'appellation Morgon ; de même que d'autres les ont étudiés sur un cépage donné : Simpson & Miller (1984) sur le Chardonnay, Paloc *et al.* (1993) sur le Muscat petit grain et d'Alexandrie, Aleixandre *et al.* (2003) sur les cépages rouges espagnols (Cabernet-Sauvignon, Tempranillo, Monastrell et Bobal) ; ou encore sur des aires géographiques de production : Vilanova *et al.* (2005) en Espagne, Goldner *et al.* (2007) en Argentine.

Toutefois, ces auteurs n'ont pas cherché à savoir si les vins étudiés étaient sensoriellement représentatifs de leur catégorie. En effet, il est parfaitement concevable que certains vins regroupés dans une catégorie selon les critères propres à celle-ci n'en soient pas pour autant représentatifs sur d'autres critères, notamment sensoriels. C'est par exemple le cas des Chardonnays de bourgogne issus des appellations régionales, communales, premier cru et grand cru dont seulement 7 sur 23 étaient jugés typiques du cépage, indifféremment du prestige de l'appellation (Moio *et al.*, 1993).

Plus récemment, Ballester *et al.* (2005) précisent l'existence d'un espace sensoriel propre au vin de Chardonnay existant selon un gradient de représentativité, avec à la fois des vins très représentatifs et des vins peu représentatifs de la catégorie. Suivant ses conclusions, il ajoute que « *l'appartenance à une catégorie ne répondrait pas à une règle binaire du tout ou rien, mais serait plutôt basée sur un continuum sensoriel* ». Son étude montre aussi que certains vins issus d'une autre catégorie, en l'occurrence des vins produits à partir d'un autre cépage, peuvent parfois rejoindre la catégorie « chardonnay » en étant jugés comme typiques de celle-ci. Suivant ce schéma, d'autres études ont prouvé l'existence d'espaces sensoriels propres à des catégories de vins, par exemple celle de Pineau *et al.* (2007) sur les vins rouges de Merlot et de Cabernet-Sauvignon de la région bordelaise avec, là encore, l'établissement d'un gradient de typicité ou d'un continuum sensoriel. Sarrazin (2007) a appliqué cette méthodologie d'analyse sur les vins liquoreux de pourriture noble. Cela lui a permis d'affirmer l'existence de la catégorie tout en établissant des liens entre les vins à hauts degrés de représentativité et des marqueurs moléculaires comme différentes lactones ou aldéhydes. Schüttler *et al.* (2015) ont aussi appliqué cette approche aux vins de Riesling avec laquelle ils ont pu montrer la corrélation entre la concentration en 3-sulfanylhéxan-3-ol et le type. Enfin, plus récemment encore, Allamy (2015) a montré que l'odeur de fruits cuits pouvait correspondre au type d'une appellation de vins rouges de Bordeaux.

## 5. LES VINS DE PRESSE

### 5.1. Origines et procédés d'élaborations

Les vins de presse font partie intégrante du processus de vinification des vins rouges dont la singularité repose sur une vinification en présence des parties solides du raisin (aussi appelé « marc ») qui renferment le potentiel tinctorial et une large part de la sapidité. A l'inverse du vin d'égouttage obtenu par l'écoulage naturel du vin de sa cuve de fermentation, le vin de presse, comme son nom l'indique, est obtenu par le pressurage du marc.

L'étape de macération en présence des pellicules et des pépins (exception faite des rafles) est indispensable à l'obtention d'un vin rouge riche et complet. Toutefois, cette macération est ajustable en fonction des objectifs et du modèle de vin que souhaite atteindre le vinificateur. Elle peut être plus ou moins longue ou plus ou moins intense dans les procédés mis en œuvre. Si l'on prend l'exemple de la technique du remontage, pratique très employée à Bordeaux et qui consiste à arroser le marc par un volume de jus donné, son intensité va se mesurer par la proportion de jus (en rapport à la cuve) remontée quotidiennement.

Toutefois, le raisin n'est pas uniquement constitué d'éléments qualitatifs pour le vin. Certaines substances amères, astringentes ou herbacées peuvent, si elles sont extraites, conduire à une dépréciation majeure de la qualité du vin rouge. De plus, il est généralement admis que la proportion d'éléments qualitatifs est un indicateur assurant une distinction dans la qualité des raisins. Tout l'art de la vinification des vins rouges se cristallise en fait dans l'estimation de cette portion qualitative et dans la juste conduite de la macération pour tirer profit, au maximum, de ce que le raisin est en mesure d'offrir. Il serait vain d'imaginer pouvoir appliquer les mêmes itinéraires techniques à des raisins ordinaires, de maturité faible ou moyenne, qu'à des raisins dont le potentiel est la signature du grand terroir dont ils sont issus. Cela fait dire à Peynaud (1988) que « *le vin n'est pas tout le raisin ; il n'en représente que la meilleure part* » et il ajoute, avec autant de caustique que d'exactitude, que « *les chefs de caves que j'appelle lessiveurs vous épuisent un marc jusqu'à la corde ; ils entraînent l'amer et l'astringent avec le vin de goutte et vous livrent des vins de presse lavés, décharnés, et finalement inutilisables.* »

À l'inverse du vin de goutte obtenu par gravité ou vin d'égouttage, le vin de presse résulte d'une action mécanique sur le marc qui permet de récupérer le vin qui l'imprègne. Il est le regroupement du vin interstitiel, facile à séparer et relativement proche du vin de goutte, et du vin qui imbibe directement les tissus du marc. Dans le Bordelais, il représente une part non négligeable du volume total, autour de 15 %.

D'un point de vue technique, le pressurage peut être réalisé par différents types de pressoir : verticaux, horizontaux, pneumatiques ou continus. Depuis ces dernières années, le pressurage pneumatique a largement supplanté les autres dans les majorités des cas. Il assure, par l'intermédiaire d'une membrane, des cycles alternant des phases de montée en pression avec des phases d'émiettage. Le cycle de pressurage appartient, là encore, à l'appréciation du vinificateur, de même que d'éventuelles « coupes » ou séparations dans la collecte des jus de presse.

## 5.2. Principales caractéristiques des vins de presse

### 5.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

La composition physico-chimique des vins de presse peut se résumer très brièvement ainsi : « *on peut dire du vin de presse qu'il est concentré en tous les éléments de sa constitution sauf l'alcool* » (Ribéreau-Gayon et al, 2012 ; **Tableau 3**).

**Tableau 3.** Caractéristiques physico-chimiques des vins de presse par rapport au vin de goutte (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2007).

|  | Vin de goutte | Vin de presse |
|--|---------------|---------------|
| TAV (% v/v)  | 12,0          | 11,6          |
| Sucres réducteurs (g.L <sup>-1</sup> )                               | 1,9           | 2,6           |
| Acidité totale (g.L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )   | 3,23          | 3,57          |
| Acidité volatile (g.L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) | 0,35          | 0,45          |
| Azote total (g.L <sup>-1</sup> )                                     | 0,28          | 0,37          |
| Composés phénoliques totaux (g.L <sup>-1</sup> )                     | 35            | 68            |
| Anthocyanes (g.L <sup>-1</sup> )                                     | 0,33          | 0,40          |
| Tannins (g.L <sup>-1</sup> )   | 1,75          | 3,20          |

En effet, le *titre alcoométrique volumique (TAV)* peut ainsi baisser d'environ quatre dixièmes par rapport au vin de goutte par contraste avec les *sucres réducteurs* qui augmentent, tout comme l'*acidité totale*. De plus, l'accroissement des *composés phénoliques totaux*, anthocyanes et tanins, dont la teneur peut être doublée, traduit bien le phénomène d'extraction que nous avons déjà énoncé. Enfin, la concentration d'autres paramètres tels que l'*azote total* ou l'*acidité volatile* sont, aussi, généralement accentués.

### 5.2.2. Caractéristiques organoleptiques

Comme le prouvent les analyses physico-chimiques qui rejoignent les observations empiriques, le vin de presse constitue un jus dont l'extraction envers le marc a été plus grande et moins contrôlée par le vinificateur. De plus, ces vins résultent d'un processus mécanique (le pressurage) qui accroît les effets de trituration par la pression, les émiettages ou les rebêchages exercés sur le marc. Ces vins subissent, dans le même temps, un apport massif d'oxygène.

Sans que nous en connaissions précisément la cause et bien que cette question soit peu documentée, il est possible que ces effets participent à une dépréciation qualitative de ces vins dont l'odeur est très souvent apparentée à des nuances végétales. Selon Peynaud (1981), le pressurage des marcs apporte des notes herbacées qui « *dominent pour les vins les plus communs* ». Cependant, l'œnologue qu'il est, qualifie aussi le vin de presse de « *vin médecin ; c'est-à-dire améliorant, correcteur* » et complémente ainsi : « *j'aime qu'il ait des réserves de bon tanin et qu'utilisé en proportions déterminées, il apporte à la cuvée du charnu et du gras* » (Peynaud, 1988). Même s'il ne fait, ici, aucunement mention des nuances aromatiques, il semble qu'elles puissent être variables d'un vin à l'autre et, rejoignant son idée première, dépendante de la qualité de la vendange et de l'extraction qui en a été faite. Lorsqu'il ne présente pas ces notes « végétales » caractéristiques ou de grossièretés dans ces tanins, il est un élément de bonification lors de son introduction, tout au moins en partie, dans le vin final. La proportion ajoutée dépend, là encore, de l'appréciation du vinificateur et de la qualité organoleptique de celui-ci. Deux écoles se distinguent alors : celle qui réalise l'assemblage au début de l'élevage, celle qui le réalise avant la mise en bouteille. Il est aussi des vinificateurs qui marient directement le vin de presse au vin de goutte à la sortie du pressurage, constituant un lot homogène avant même le déroulement des fermentations malolactiques.

# **MATERIELS ET METHODES**

# 1. GÉNÉRALITÉS

## 1.1. Raisins et matériel végétal

### 1.1.1. Préparation des extraits de raisin

Afin d'être analysé, le matériel végétal (raisin ou rafle) initialement stocké à -20 °C est refroidi dans l'azote liquide et réduit en une fine poudre par un broyeur mécanique à bille. Le temps de broyage est de 2 minutes. 3 g de poudre sont ensuite transférés dans un vial SPME contenant 7 mL d'eau ultrapure avant d'être analysés selon l'une des méthodes de quantification décrites (§ 3.4). Chaque préparation est systématiquement doublée (n=2).

Pour l'analyse des *baies en lien avec des pathogènes*, une vingtaine de grappes entières sont récoltées sur des plants de vigne touchée par l'Esca et identifiés par les symptômes foliaires, 100 baies sont ensuite prélevées aléatoirement sur ces grappes ; une vingtaine de foyers de pourriture grise sont aussi prélevés, correspondant à 100 baies environ. Ces prélèvements ont été réalisés sur une parcelle de vieille vigne de Cabernet Sauvignon en appellation Haut-Médoc (millésime 2015).

Pour l'analyse des *proportions pellicule/pulpe*, 50 baies de Cabernet Sauvignon sont refroidies dans l'azote liquide et séparées de leur pellicule par une incision au scalpel. Afin de pouvoir rapporter les teneurs mesurées des composés au % de la baie, les proportions entre les pellicules, les pépins et la pulpe sont estimées sur 25 baies du même lot en divisant le poids des constituants pris séparément par le poids total du lot : 81,46 % pulpe, 6,17 % pépins, 12,36 % pellicule. Ces analyses ont été réalisées sur des raisins sains de Cabernet Sauvignon de maturité optimale en appellation Haut-Médoc (millésime 2014).

### 1.1.2. Préparation des extraits d'*Artemisia vulgaris* et *Artemisia verlotiorum*

10 g de feuilles fraîches d'*Artemisia verlotiorum* collectés sur la parcelle d'élaboration des vins de Pauillac (PT09, PT10 et PT14) et 10 g de feuille fraîche d'*Artemisia* collectés sur une parcelle du vignoble de Cognac sont mis à macérer 4 jours dans une bouteille en verre

ambrée de 100 mL contenant une solution hydroalcoolique à 50 % v/v. 1 mL du macérat est ensuite déposé dans un vial SPME contenant 9 mL d'eau ultrapure et 3 g de sel avant d'être analysé selon la *méthode 1* (§ 3.4.1).

## 1.2. Microvinifications

Les raisins correspondants sont éraflés de manière mécanique (Bellot, Gradignan, France), foulés manuellement puis transférés dans deux cuves de vinification de 20 L en inox. Les moûts sont ensuite inoculés par une souche commerciale de *S. cerevisiae* (FX10 ; Laffort Œnologie, Bordeaux, France) à 20 g/hL. Au début de la fermentation, un remontage aéré de 1/3 à 1/2 du volume de la cuve est effectué. Durant la fermentation (environ 7 jours), le marc est pigé une à deux fois (cœur de fermentation) par jour. Lorsque la densité chute en dessous de 1000, le travail sur le vin est arrêté et la cuve fermée le temps de la macération post-fermentaire (environ 15 jours). Après l'écoulage, le marc est récupéré et pressé par un pressoir pneumatique miniature. Jus de goutte et jus de presse sont ensuite transférés dans des contenants en verre teinté de 5 L. La fermentation malolactique est réalisée par le maintien des vins dans une chambre thermo régulée à 20 ° C. À l'achèvement de celle-ci, 50 mg/L de dioxyde de soufre (6 % v/v ; Laffort, Bordeaux, France) sont additionnés aux vins. Ils sont ensuite embouteillés en format de 1,5 L.

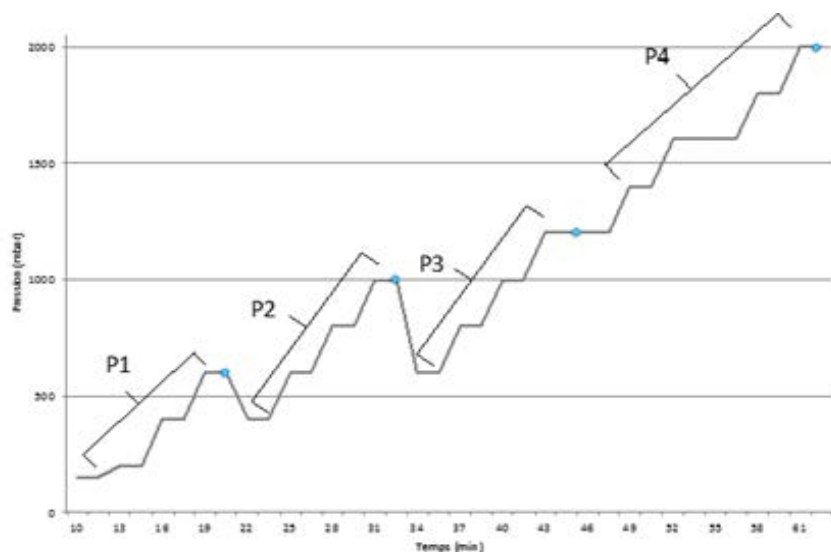
Toutes les analyses classiques sur les vins sont réalisées par un appareil de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (OenoFoss™), régulièrement calibré avec des vins rouges de Bordeaux.

## 1.3. Réalisation des essais de pressurage

Après écoulage du vin de goutte, le marc de la cuve (50 hL) est séparé de manière égale dans le sens de la longueur. Selon les propriétés, les deux lots sont pressés successivement ou simultanément (2 pressoirs). Les pressoirs utilisés sont des pressoirs pneumatiques Bucher Vaslin Inertys. Les échantillons sont constitués selon 4 niveaux de pression (P1, P2, P3, P4) du cycle de pressurage (**Figure 19**) et deux modalités d'inertage du pressoir à l'azote (inerté, non inerté). Le vin de presse est collecté dans des contenants en verre ambré de 2,5 L inertés à



l'azote. L'évolution de la teneur en oxygène est mesurée en sortie du pressoir à l'aide d'une sonde optique Hach.



**Figure 18. Graphique du cycle de pressurage (pression en fonction du temps).** Les points bleus indiquent le moment de collecte de l'échantillon.

Les fermentations malolactiques (FML) sont réalisées après ensemencement par *Oenococcus oeni* dans les mêmes contenants en verre, dans une chambre obscure thermo régulée à 20 ° C. Après achèvement de celles-ci, les vins sont soutirés, mis en bouteille, sulfités à 50 mg/L et stockés à 4 ° C. Chaque série est donc constituée de 9 vins : goutte ; P1 inerté, P1 non inerté, P2 inerté, P2 non inerté, P3 inerté, P3 non inerté, P4 inerté, P4 non inerté.

Pour les vins de Merlot de la propriété « *Pomerol 15, M* », une partie des échantillons (250 mL) a été sulfitée sans avoir réalisée la fermentation malolactique ; d'autres n'ont ni réalisés la FML ni été sulfités. Après un passage au froid (4 ° C) de 48 h, ces échantillons ont été soutirés et sulfités (50 mg/L) ou non, embouteillés et stockés à 4 ° C. 24 vins de presses différents sont ainsi obtenus avec quatre niveaux de pression. À chaque niveau de pression sont associés 6 vins (**Tableau 4**).

**Tableau 4. Matrice d'échantillonnage des vins de presse de la propriété *Pomerol 15, M* (Merlot, millésime 2015).**

| Pression | Inertage   | Sulfitage   | FML |
|----------|------------|-------------|-----|
| P1       | Inerté     | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
|          | Non Inerté | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
| P2       | Inerté     | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
|          | Non Inerté | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
| P3       | Inerté     | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
|          | Non Inerté | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
| P4       | Inerté     | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |
|          | Non Inerté | Sulfité     | Oui |
|          |            |             | Non |
|          |            | Non Sulfité | Non |

#### 1.4. Constitution des milieux modèles

Le *milieu modèle de vin* est constitué par un mélange hydroalcoolique à 12 % vol. supplémenté par 5 g/L de L(+)-acide tartrique et ajusté à pH 3,5 par l'ajout d'une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 M.

Le *milieu modèle de moût* a été validé par Marullo *et al.* (2005) ; sa composition est présentée dans le **Tableau 5**.

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

| Composés               | Concentration finale |
|------------------------|----------------------|
| Glucose et Fructose    | 190 g/L              |
| Acide Tartrique        | 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                 |                      |
| Acide 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 détaillé dans Marullo *et al.*, 2005

## 1.5. Vins

### 1.5.1. Présélection de vins utilisée pour l'étude du champ lexical associée au descripteur « végétal »

Les 22 vins utilisés au cours du **chapitre 1** étaient principalement originaires de la région bordelaise, à l'exception d'un vin de l'Aveyron (Marcillac11) et d'un vin de la vallée de la Loire (Anjou08). Les cépages représentés étaient les suivants : Cabernet Sauvignon, Cabernet franc, Merlot et Fer Servadou (famille des Carmenets). 6 vins provenaient de la microvinification de différents clones de Cabernet franc sur les millésimes 2008, 2009 et 2010 (Van Leeuwen *et al.*, 2013) ; 7 vins du millésime 2012 et 2013 étaient encore en cours d'élevage (cuve inox ou barrique) au moment de leur prélèvement en bouteille (6 mois) ; le reste était des vins commerciaux. Au final, les millésimes de l'échantillonnage étaient compris entre 1992 et 2013. L'ensemble des vins est présenté dans le **Tableau 6**.

Tableau 6. Vins utilisés au cours du chapitre 1.

| Région                  | Millésime | Type | Cépage    | Code            |
|-------------------------|-----------|------|-----------|-----------------|
| Bordeaux, Pauillac      | 1992      | VF   | CS, M     | HB92            |
| Bordeaux, Saint Emilion | 2008      | MC   | CF        | CF08_135539     |
| Bordeaux, Saint Emilion | 2008      | MC   | CF        | 2013CF08_112826 |
| Loire                   | 2008      | VF   | CF        | Anjou08         |
| Bordeaux, Saint Emilion | 2009      | MC   | CF        | CF09_273778     |
| Bordeaux, Saint Emilion | 2009      | MC   | CF        | CF09_274414     |
| Bordeaux, Saint Emilion | 2010      | MC   | CF        | CF10_142828     |
| Bordeaux, Saint Emilion | 2010      | MC   | CF        | CF10_133208     |
| Aveyron, Marcillac      | 2011      | VF   | FS        | Marcillac11     |
| Bordeaux, Pauillac      | 2012      | VF   | CS, M, PV | OenoConseil_E   |
| Bordeaux, Pauillac      | 2012      | VF   | CS, M, PV | OenoConseil_A   |
| Bordeaux, Pauillac      | 2012      | VF   | CS, M     | OenoConseil_C   |
| Bordeaux, Pauillac      | 2012      | VF   | CS, M     | OenoConseil_B   |
| Bordeaux, Pauillac      | 2012      | VF   | CS, M     | OenoConseil_D   |
| Bordeaux, Haut-Médoc    | 2012      | VF   | CS, M     | CB12            |
| Bordeaux, Pauillac      | 2013      | P    | CS        | PB_CS           |
| Bordeaux, Pomerol       | 2013      | P    | CS        | Petit_villageCS |
| Bordeaux, Pauillac      | 2013      | P    | CS        | CS_BAS          |
| Bordeaux, Pauillac      | 2013      | P    | CS        | CS_CAB_LS_JV    |
| Bordeaux, Pauillac      | 2013      | P    | CS        | CS_PLBas        |
| Bordeaux, Pomerol       | 2013      | P    | CF        | Petit_villageCF |
| Bordeaux, Pauillac      | 2013      | P    | CS        | CS_BIO          |

\* MC, microvinification ; VF, vin fini (commercial) ; P, vin primeur ; Pr, vin de presse. CF, Cabernet franc ; CS, Cabernet Sauvignon ; M, Merlot ; C, Carménère ; PV, Petit Verdot ; FS, Fer Servadou.

### 1.5.2. Vins commerciaux et expérimentaux utilisés pour l'étude des corrélations entre les nuances aromatiques végétales et les marqueurs moléculaires connus

Sur l'échantillonnage des 70 vins utilisés au cours du **chapitre 3**, 33 vins sont des vins obtenus à partir de microvinifications de clones de Cabernet franc sur les millésimes 2008, 2009 et 2010 (Van Leeuwen *et al.*, 2013). Le reste de l'échantillonnage provenait principalement de la région de Bordelaise, mais aussi de la Loire (Anjou08) ou de l'Aveyron (Marcillac11). Les variétés représentées étaient les suivantes : Cabernet Sauvignon, Cabernet franc, Merlot, Petit Verdot, Carmenere et Fer Servadou. Essentiellement des variétés du sud-ouest de la famille des Carmenets. La gamme des millésimes allait de 2008 à 2013 (millésime primeur). En dehors des vins de micro vinification, une partie était constituée de vins commerciaux et une autre de vins en cours d'élevage (barrique ou cuve inox). 4 d'entre eux étaient des vins de presse de Merlot du millésime 2013. L'ensemble des vins est présenté dans le **Tableau 7**.

Tableau 7. Vins utilisés au cours du chapitre 3.

| Région                   | Millésime | Type | Cépage    | Code            |
|--------------------------|-----------|------|-----------|-----------------|
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_135539     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_144762     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_145245     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_272366     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_112826     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_113428     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_274463     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_090573     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_273778     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_133208     |
| Loire                    | 2008      | VF   | CF        | Anjou08         |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2008      | MC   | CF        | CF08_274414     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_144762     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_113428     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_090573     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_273778     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_274463     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_112826     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_135539     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_133208     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_272366     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2009      | MC   | CF        | CF09_274414     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_273778     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_215936     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_143410     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_274414     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_272366     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_142828     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_113428     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_135539     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_215662     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_271921     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_144762     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_090573     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_133208     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_274463     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_144638     |
| Bordeaux, Saint Emilion  | 2010      | MC   | CF        | CF10_112826     |
| Aveyron, Marcillac       | 2011      | VF   | FS        | Marcillac11     |
| Bordeaux, Pauillac       | 2012      | VF   | CS, M, PV | OenoConseil_E   |
| Bordeaux, Pauillac       | 2012      | VF   | CS, M, PV | OenoConseil A   |
| Loire                    | 2012      | VF   | CF        | Chinon12        |
| Bordeaux, Pauillac       | 2012      | VF   | CS        | PB_CS12         |
| Bordeaux, Pauillac       | 2012      | VF   | CS, M     | OenoConseil_C   |
| Bordeaux                 | 2012      | VF   | M, CS     | Bdx12           |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_PL_Haut      |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | PB_CS           |
| Bordeaux, Pessac Leognan | 2013      | Pr   | M         | HB_P3-NI        |
| Bordeaux, Pomerol        | 2013      | P    | CS        | Petit_villageCS |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_PADLS        |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_BAS          |
| Bordeaux                 | 2013      | MC   | C         | Carmènere 13    |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_CAB_LS_JV    |
| Bordeaux, Pessac Léognan | 2013      | Pr   | M         | HB_P1-NI        |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CF        | CF_SA           |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | PB_CS2          |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | PC-MT           |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_LS03         |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_PLBas        |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | PA_CS           |
| Bordeaux, Pomerol        | 2013      | P    | CF        | Petit_villageCF |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_BIO          |
| Bordeaux, Pessac Leognan | 2013      | Pr   | M         | HB_P2-NI        |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_SA_Haut      |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_DP_Haut      |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_PL07         |
| Bordeaux, Pessac Leognan | 2013      | Pr   | M         | HB_P4-NI        |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_ARJ          |
| Bordeaux, Pauillac       | 2013      | P    | CS        | CS_MTPB         |
| Bordeaux, Pessac Leognan | 2013      | P    | M         | Goutte_HB       |

\* MC, microvinification ; VF, vin fini (commercial) ; P, vin primeur ; Pr, vin de presse. CF, Cabernet franc ; CS, Cabernet Sauvignon ; M, Merlot ; C, Carménère ; PV, Petit Verdot ; FS, Fer Servadou.

### 1.5.3. Vins obtenus à partir des expérimentations de pressurage

#### 1.5.3.1. Millésime 2013

**Tableau 8. Vins obtenus par les expérimentations de pressurage réalisées au cours du millésime 2013.**

| Appellation           | Millésime | Cépage | Vin           | Code                           |
|-----------------------|-----------|--------|---------------|--------------------------------|
| Pessac-Léognan<br>(1) | 2013      | Merlot | Jus de Goutte | Pessac-Léognan PC 13, M (G)    |
|                       |           |        | P1 inerté     | Pessac-Léognan PC 13, M (P1i)  |
|                       |           |        | P2 inerté     | Pessac-Léognan PC 13, M (P2i)  |
|                       |           |        | P3 inerté     | Pessac-Léognan PC 13, M (P3i)  |
|                       |           |        | P4 inerté     | Pessac-Léognan PC 13, M (P4i)  |
|                       |           |        | P1 non inerté | Pessac-Léognan PC 13, M (P1ni) |
|                       |           |        | P2 non inerté | Pessac-Léognan PC 13, M (P2ni) |
|                       |           |        | P3 non inerté | Pessac-Léognan PC 13, M (P3ni) |
| Pessac-Leognan<br>(2) | 2013      | Merlot | P4 non inerté | Pessac-Léognan PC 13, M (P4ni) |
|                       |           |        | Jus de Goutte | Pessac-Léognan HB13, M (G)     |
|                       |           |        | P1 inerté     | Pessac-Léognan HB13, M (P1i)   |
|                       |           |        | P2 inerté     | Pessac-Léognan HB13, M (P2i)   |
|                       |           |        | P3 inerté     | Pessac-Léognan HB13, M (P3i)   |
|                       |           |        | P4 inerté     | Pessac-Léognan HB13, M (P4i)   |
|                       |           |        | P1 non inerté | Pessac-Léognan HB13, M (P1ni)  |
|                       |           |        | P2 non inerté | Pessac-Léognan HB13, M (P2ni)  |
|                       |           |        | P3 non inerté | Pessac-Léognan HB13, M (P3ni)  |
|                       |           |        | P4 non inerté | Pessac-Léognan HB13, M (P4ni)  |

#### 1.5.3.2. Millésime 2015

**Tableau 9. Vins obtenus par les expérimentations de pressurage réalisées au cours du millésime 2015.**

| Appellation | Millésime | Cépage             | Vin              | Code                     |
|-------------|-----------|--------------------|------------------|--------------------------|
| Pomerol     | 2015      | Merlot             | <b>Tableau 4</b> | Pomerol 15, M            |
| Bordeaux    | 2015      | Merlot             | Jus de Goutte    | Bordeaux DR15, M (G)     |
|             |           |                    | P1 inerté        | Bordeaux DR15, M (P1i)   |
|             |           |                    | P2 inerté        | Bordeaux DR15, M (P2i)   |
|             |           |                    | P3 inerté        | Bordeaux DR15, M (P3i)   |
|             |           |                    | P4 inerté        | Bordeaux DR15, M (P4i)   |
|             |           |                    | P1 non inerté    | Bordeaux DR15, M (P1ni)  |
|             |           |                    | P2 non inerté    | Bordeaux DR15, M (P2ni)  |
|             |           |                    | P3 non inerté    | Bordeaux DR15, M (P3ni)  |
| Bordeaux    | 2015      | Cabernet-Sauvignon | P4 non inerté    | Bordeaux DR15, M (P4ni)  |
|             |           |                    | Jus de Goutte    | Bordeaux DR15, CS (G)    |
|             |           |                    | P1 inerté        | Bordeaux DR15, CS (P1i)  |
|             |           |                    | P2 inerté        | Bordeaux DR15, CS (P2i)  |
|             |           |                    | P3 inerté        | Bordeaux DR15, CS (P3i)  |
|             |           |                    | P4 inerté        | Bordeaux DR15, CS (P4i)  |
|             |           |                    | P1 non inerté    | Bordeaux DR15, CS (P1ni) |
|             |           |                    | P2 non inerté    | Bordeaux DR15, CS (P2ni) |
|             |           |                    | P3 non inerté    | Bordeaux DR15, CS (P3ni) |
|             |           |                    | P4 non inerté    | Bordeaux DR15, CS (P4ni) |

## 1.5.3.1. Millésime 2014

Tableau 10. Vins obtenus par les expérimentations de pressurage réalisées au cours du millésime 2014.

| Appellation        | Millésime | Cépage             | Vin                 | Code                                  |
|--------------------|-----------|--------------------|---------------------|---------------------------------------|
| Pessac-Leognan (1) | 2014      | Merlot             | Jus de Goutte       | Pessac-Léognan PC14, M (G)            |
|                    |           |                    | P1 inerté           | Pessac-Léognan PC14, M (P1i)          |
|                    |           |                    | P2 inerté           | Pessac-Léognan PC14, M (P2i)          |
|                    |           |                    | P3 inerté           | Pessac-Léognan PC14, M (P3i)          |
|                    |           |                    | P4 inerté           | Pessac-Léognan PC14, M (P4i)          |
|                    |           |                    | P1 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, M (P1ni)         |
|                    |           |                    | P2 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, M (P2ni)         |
|                    |           |                    | P3 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, M (P3ni)         |
| Pessac-Leognan (1) | 2014      | Cabernet-Sauvignon | P4 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, M (P4ni)         |
|                    |           |                    | Jus de Goutte       | Pessac-Léognan PC14, CS (G)           |
|                    |           |                    | P1 inerté           | Pessac-Léognan PC14, CS (P1i)         |
|                    |           |                    | P2 inerté           | Pessac-Léognan PC14, CS (P2i)         |
|                    |           |                    | P3 inerté           | Pessac-Léognan PC14, CS (P3i)         |
|                    |           |                    | P4 inerté           | Pessac-Léognan PC14, CS (P4i)         |
|                    |           |                    | P1 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, CS (P1ni)        |
|                    |           |                    | P2 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, CS (P2ni)        |
| Pessac-Leognan (2) | 2014      | Cabernet-Sauvignon | P3 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, CS (P3ni)        |
|                    |           |                    | P4 non inerté       | Pessac-Léognan PC14, CS (P4ni)        |
|                    |           |                    | Jus de Goutte       | Pessac-Léognan HB14, CS (G)           |
|                    |           |                    | P1 inerté           | Pessac-Léognan HB14, CS (P1i)         |
|                    |           |                    | P2 inerté           | Pessac-Léognan HB14, CS (P2i)         |
|                    |           |                    | P3 inerté           | Pessac-Léognan HB14, CS (P3i)         |
|                    |           |                    | P4 inerté           | Pessac-Léognan HB14, CS (P4i)         |
|                    |           |                    | P1 non inerté       | Pessac-Léognan HB14, CS (P1ni)        |
| Bordeaux           | 2014      | Merlot             | P2 non inerté       | Pessac-Léognan HB14, CS (P2ni)        |
|                    |           |                    | P3 non inerté       | Pessac-Léognan HB14, CS (P3ni)        |
|                    |           |                    | P4 non inerté       | Pessac-Léognan HB14, CS (P4ni)        |
|                    |           |                    | Jus de Goutte       | Bordeaux DR14, CS (G)                 |
|                    |           |                    | P1 inerté           | Bordeaux DR14, CS (P1i)               |
|                    |           |                    | P2 inerté           | Bordeaux DR14, CS (P2i)               |
|                    |           |                    | P3 inerté           | Bordeaux DR14, CS (P3i)               |
|                    |           |                    | P4 inerté           | Bordeaux DR14, CS (P4i)               |
| Côte-du-Rhône      | 2014      | Syrah              | P1 non inerté       | Bordeaux DR14, CS (P1ni)              |
|                    |           |                    | P2 non inerté       | Bordeaux DR14, CS (P2ni)              |
|                    |           |                    | P3 non inerté       | Bordeaux DR14, CS (P3ni)              |
|                    |           |                    | P4 non inerté       | Bordeaux DR14, CS (P4ni)              |
|                    |           |                    | P1+P2+P3 inerté     | Côtes-du-Rhône 14, Syrah (P1+P2+P3)i  |
|                    |           |                    | P1+P2+P3 non inerté | Côtes-du-Rhône 14, Syrah (P1+P2+P3)ni |

## 1.6. Questionnaire

En premier lieu, 166 participants remplissent un formulaire anonyme listant les principaux critères permettant de les définir (âge, profession, années d'expérience en œnologie, fréquence de consommation des vins). 16 descripteurs olfactifs sont ensuite proposés sous forme d'une série d'images : poivron, fruits rouges, herbes aromatiques, pruneau, herbe coupée, cassis, champignon, menthe, empyreumatique, chou, géranium, métallique, fruits noirs, concombre, haricots verts, fleurs blanches. Pour chacune de ces images, le jury doit répondre à la question suivante : « *cette image vous évoque-t-elle un arôme constitutif du caractère*

“*presse*” d’un vin rouge ? ». Le traitement statistique est réalisé par un test du Chi2 entre les réponses positives et négatives avec le logiciel R (v3.1.1).

Un champ permettant la libre saisie des descripteurs est aussi proposé, sans limites de nombres. Les données sont traitées de manière équivalente à celles obtenues par une génération libre de vocabulaire (§ 2.3.1)

## 2. ANALYSE SENSORIELLE

### 2.1. Conditions expérimentales et paramètres généraux

Toutes les évaluations sensorielles (orthonasale) ont été réalisées dans la salle de dégustation de l’Unité de recherche Œnologie (ISVV) répondant à la norme ISO 8589 : 2007.

Cette salle est spécialement conçue pour limiter les facteurs externes pouvant perturber l’analyse. Elle comprend 10 postes individualisés qui garantissent une dégustation isolée et indépendante, sans concertation. Elle assure aussi une température constante ( $20 \pm 1$  °C), une hygrométrie régulée, une bonne isolation phonique ainsi que l’absence de pollution lumineuse et olfactive. Au cours des séances, les dégustateurs ne disposent d’aucun matériel d’assistance informatique, seules des fiches d’évaluation leur sont fournies. Les dégustations sont effectuées dans des verres transparents ou opaques (noirs) de type INAO correspondant à la norme ISO 3591:1977 (AFNOR, 2007). Chaque verre constitue un échantillon qui est codé par un nombre à trois chiffres et recouvert d’un couvercle en plastique tout au long de la séance. L’ordre de présentation est systématiquement randomisé (un ordre par juge) afin de limiter les effets « série ». De plus, s’agissant d’échantillon de vin, les bouteilles initialement stockées à 10 °C dans une chambre froide sont ouvertes 30 min à l’avance environ et systématiquement dégustées afin de s’assurer de l’absence de déviations majeures. Lorsque les volumes le permettent, les verres sont renouvelés régulièrement par l’échantillon stocké à 15 °C durant la session.



## 2.2. Panel

**Tableau 11. Récapitulatif des panels d'analyse sensorielle utilisés dans les différents chapitres.**

| N° Panel        | N° Chapitre            | Constitution                        |
|-----------------|------------------------|-------------------------------------|
| <i>Panel 2</i>  | <b>chapitre 3</b>      | 27 personnes (16 femmes, 11 hommes) |
| <i>Panel 3</i>  | <b>chapitre 4</b>      | 14 personnes (5 femmes, 9 hommes)   |
| <i>Panel 4</i>  | <b>chapitre 5</b>      | 14 personnes (8 femmes, 6 hommes)   |
| <i>Panel 5</i>  |                        | 15 personnes (8 femmes, 7 hommes)   |
| <i>Panel 6</i>  |                        | 17 personnes (9 femmes, 8 hommes)   |
| <i>Panel 7</i>  | <b>chapitre 7</b>      | 15 personnes (7 femmes, 8 hommes)   |
| <i>Panel 8</i>  | <b>chapitre 8</b>      | 20 personnes (11 femmes, 9 hommes)  |
| <i>Panel 9</i>  |                        | 18 personnes (10 femmes, 8 hommes)  |
| <i>Panel 10</i> | <b>chapitre 10</b>     | 17 personnes (10 femmes, 7 hommes)  |
| <i>Panel 11</i> | <b>chapitre 10, 13</b> | 17 personnes (12 femmes, 5 hommes)  |
| <i>Panel 12</i> | <b>chapitre 11</b>     | 19 personnes (12 femmes, 7 hommes)  |
| <i>Panel 13</i> |                        | 15 personnes (9 femmes, 6 hommes)   |
| <i>Panel 14</i> |                        | 13 personnes (8 femmes, 5 hommes)   |
| <i>Panel 15</i> |                        | 14 personnes (8 femmes, 6 hommes)   |
| <i>Panel 16</i> |                        | 39 personnes (23 femmes, 16 hommes) |
| <i>Panel 17</i> |                        | 15 personnes (8 femmes, 7 hommes)   |
| <i>Panel 18</i> |                        | 21 personnes (8 femmes, 13 hommes)  |
| <i>Panel 19</i> | <b>chapitre 13</b>     | 28 personnes (18 femmes, 10 hommes) |
| <i>Panel 20</i> | <b>chapitre 13</b>     | 26 personnes (15 femmes, 11 hommes) |

Le *panel 1* (**chapitre 1**) était constitué de 12 personnes (3 femmes et 9 hommes) sélectionnées pour leur expertise dans l'analyse sensorielle et dans la connaissance des vins rouges. Chaque participant était un professionnel (directeur technique, responsable de laboratoire d'œnologie) du vin travaillant dans la région de Bordeaux ou des membres de l'ISVV sélectionnés pour leur degré d'expertise. Tous ces participants avaient plusieurs années

d'expérience (20 ans en moyenne) et pratiquaient la dégustation plusieurs fois par semaine. Aucun entraînement particulier n'a été réalisé pour cette évaluation.

Les *autres panels* (**Tableau 11**) n'étaient pas experts, mais peuvent être qualifiés de panels expérimentés puisque les personnes qui les constituaient étaient des membres de l'ISVV, œnologues, chercheurs et étudiants, recrutés sur la base de leur motivation, de leur disponibilité, leur habitude à déguster et leur bonne connaissance du produit.

## 2.3. Épreuves descriptives

### 2.3.1. Génération d'un vocabulaire libre

Cette méthode d'analyse sensorielle consiste à laisser les juges exprimer leurs impressions olfactives sans limitation du nombre de descripteurs. Elle permet ainsi la caractérisation des espaces sensoriels des vins en apportant un grand nombre de données sémantiques. L'instruction qui est donnée aux participants est la suivante « *Décrivez les sensations olfactives que vous procure ce vin en utilisant le vocabulaire qui vous est familier* » (**Annexe IV**). Dans un premier temps, tous les descripteurs générés au cours de la séance sont listés et organisés par juge. Les termes hédoniques (agréable, déplaisant), les termes quantitatifs (fort) ou impropres à l'olfaction (doux, sucré) sont éliminés. Les synonymes sont ensuite été regroupés dans une même catégorie. Pour chacun des descripteurs, le nombre de citations ( $N_{\text{citations}}$ ) est multiplié par le nombre de juges ( $N_{\text{juges}}$ ) qui l'a cité ; ceux cités une seule fois sont éliminés.

Des séances d'évaluation sous la forme d'une génération de descripteurs libres ont été réalisées par le *panel 1* (**chapitre 1**) et le *panel 7* (**chapitre 7**). Les évaluations sensorielles ont été conduites sur une seule séance d'une durée approximative de 3 h, avec un renouvellement du vin à mi-session. Chaque poste contenait une série de 4 ou 5 verres contenant chacun 50 mL d'échantillon.

### 2.3.2. Évaluation de l'intensité de descripteurs odorants

L'évaluation de l'intensité perçue d'un descripteur odorant consiste à rapporter celle-ci sur une échelle de notation continue et structurée de 0 à 10 (0 correspondant à l'absence de l'odeur dans l'échantillon ; 10 à une intensité très élevée). Les données sont centrées réduites par juges puis converties en une matrice vins x juges. Leur traitement est réalisé par une analyse de variance (ANOVA) dont les conditions d'applications sont vérifiées au préalable par un test de Levene (homogénéité des variances) et un test de Shapiro-Wilk (normalité des résidus). Le risque  $\alpha$  est fixé dans les analyses à 5 %. Ces analyses sont effectuées avec l'aide du logiciel R (v3.1.1).

L'évaluation de l'intensité des descripteurs « poivron » et « mentholée » a été réalisée par le *panel 5* (**chapitre 5**) dans un vin rouge de Bordeaux aromatiquement neutre et contenant de faibles concentrations en 1,8-cinéole (0,1 µg/L) et en IBMP (< LOD). La série d'échantillons évaluée avait des modalités supplémentées par 2,5 µg/L de 1,8-cinéole ou 25 ng/L d'IBMP. Le descripteur « mentholé » a aussi été évalué sur un seul poste contenant des solutions croissantes de 1,8-cinéole : 0,3 ; 0,5 ; 0,7 ; 1 ; 1,5 µg/L.

L'évaluation de l'intensité du descripteur « végétal », faisant directement référence à la famille aromatique, a aussi été réalisée par le *panel 2* (**chapitre 3**) lors de l'évaluation de modalités de vin rouge de Bordeaux supplémentées par l'IBMP (20 ng/L) ou deux groupes comprenant le (*E*)-3-hexenol, le (*Z*)-3-hexenol, le (*E*)-2-hexenol et le (*Z*)-2-hexenol à 70, 250, 50, 15 µg/L, noté C6(1) ou à 50, 100, 25, 10 µg/L, noté C6 (2). Le *panel 2* l'a aussi évalué dans une série comprenant le 1,5 ng/L de sBMP ; 2,5 ng/L d'IPMP ; 20 ng/L d'IBMP.

De même, il a été évalué par le *panel 3* sur les tests d'omission et de reconstitution des fractions obtenues par CLHP (**chapitre 4**), mais aussi par le *panel 4* (**chapitre 5**) selon les modalités décrites ci-dessus (2,5 µg/L de 1,8-cinéole et 25 ng/L d'IBMP) ou le *panel 11* (**chapitre 13**) par l'addition dans un vin rouge de Bordeaux du salicylate de méthyle (70 µg/L) et de l'IBMP (25 ng/L).

Les évaluations sensorielles ont été conduites sur une seule séance d'une durée approximative de 3 h dans laquelle les verres contenaient 50 mL d'échantillon. Les fiches sont présentées en **Annexe II**.

### 2.3.2.1. Caractérisation d'un mélange binaire

Les notes de chaque juge sont analysées par le modèle de mélange binaire de Patte et Laffort (1979) basé sur une fonction  $[\sigma = f(\tau)]$ .  $\tau$  correspond au rapport de l'intensité aromatique d'un composé A sur la somme des intensités aromatiques des composés A et B pris séparément :  $\tau = I_A / (I_A + I_B)$ .  $\sigma$  correspond au rapport entre l'intensité du mélange et la somme des intensités des composés :  $\sigma = I_{AB} / (I_A + I_B)$ .

La représentation graphique de la fonction distingue : l'addition complète ( $\sigma=1$ ) ; l'hyper-addition ( $\sigma>1$ ) ; ou l'hypoaddition ( $\sigma<1$ ) partielle, de compromis, de compensation (ou soustraction) selon si l'intensité du mélange est plus intense, intermédiaire ou plus faible que l'odeur de chacun des composés. Les valeurs de  $\sigma$  et  $\tau$  sont exprimées avec un intervalle de confiance de 95 %.

Cette analyse a été réalisée sur les notes d'intensité du descripteur « végétal » du *panel 4* afin de caractériser le mélange binaire entre le 1,8-cinéole (2,5 µg/L) et l'IBMP (25 µg/L).

## 2.4. Épreuves discriminatives

### 2.4.1. Test triangulaire

Pour chaque test triangulaire, 3 échantillons de 50 mL sont présentés de manière codée au sujet (NF EN ISO 4120 : 2007) dans des verres noirs. Dans chaque série, deux échantillons sont identiques et un est différent. Le juge doit repérer l'échantillon différent et le mentionner, même s'il n'est pas certain de la différence (choix forcé). Six présentations sont possibles : AAB, ABA, BAA (poste1) ; BBA, BAB, ABB (poste 2). L'interprétation statistique repose sur un test d'hypothèse qui postule l'identité entre les deux produits ( $H_0 : A=B$ , probabilité de réponses justes au hasard  $p_0 = 1/3$ ). La probabilité d'obtenir le résultat de l'expérience sous cette hypothèse nulle (*p-valeur*) est donnée par une loi binomiale. Plus elle est proche de 0, plus l'hypothèse est rejetée et plus les échantillons sont différents. Les valeurs limites de probabilité adoptées sont généralement 5 %, 1 % et 0,1 %.

Des tests triangulaires ont été réalisés par le *panel 8* et le *panel 9* (**chapitre 8**), le *panel 10* et le *panel 11* (**chapitre 10**), les *panels 16, 17 et 18* (**chapitre 11**).

### 2.4.2. Seuil de détection olfactive

Par définition, le seuil de perception ou seuil de détection olfactive 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 de l'identifier (Boidron *et al.*, 1988). Cette méthode implique une présentation des échantillons selon des concentrations croissantes (**Annexe I**). Pour chaque concentration, l'évaluation est réalisée par un test de type 3-AFC (3 Alternatives à Choix Forcé, NF ISO 13301 : 2002) dans lequel seul un échantillon contient, en plus de la matrice, la molécule à détecter. Les concentrations croissantes sont établies selon un facteur de multiplication (1,5 ou 2).

Le seuil de détection olfactive est déterminé par la méthode BET (Best Estimate Threshold) préconisé par la norme NF ISO 13301 :2002. Pour chaque paneliste, son seuil de détection olfactive (BET) correspond à la moyenne géométrique entre la plus haute concentration manquée et la concentration suivante de la série. Si un panéliste détecte l'échantillon différent à la première concentration, il correspond à la moyenne géométrique entre cette concentration et la précédente hypothétique (selon le facteur de multiplication de la série). De même, si un panéliste ne détecte pas la dernière concentration, il correspond à la moyenne géométrique entre cette concentration et la suivante hypothétique (toujours selon le facteur de multiplication de la série). Le BET du composé est la moyenne géométrique des BET individuels.

Les seuils de perception déterminés par le *panel 9* et le *panel 19* sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 12. Composition des échantillons présentés pour la détermination des seuils de perception.**

| Composé                | Concentration (ng/L <sup>1</sup> ; µg/L <sup>2</sup> ) | Matrice      | Panel |
|------------------------|--|--------------|-------|
| IBMP                   | 2,5/5/7,5/10/12,5/15 <sup>(1)</sup>                    | SM           | 6     |
| IBMP + 1,8c (0,8 µg/L) | 2,5/5/7,5/10/12,5/15 <sup>(1)</sup>                    | SM           | 6     |
| (Z)-4-Heptenol         | 2,5/5/10/20/40/80 <sup>(2)</sup>                       | Vin rouge    | 9     |
| Safranal               | 0,2/0,4/0,8/1,6/3,2 <sup>(2)</sup>                     | Vin rouge    | 9     |
| Salicylate de méthyle  | 11,8/17,7/26,6/40/60/90/135/202,5 <sup>(2)</sup>       | SM/Vin rouge | 19    |

\* SM, solution hydroalcoolique modèle de vin ; 1,8c, 1,8-cinéole.

## 2.5. Évaluation du niveau d'exemplarité

### 2.5.1. Famille aromatique du « végétal » et du « fruité »

L'évaluation des termes « végétal » et « fruité » en tant que famille aromatique porteuse de plusieurs attributs sensoriels est évaluée par une question adaptée des travaux de Ballester *et al.* (2005) et Jaffré *et al.* (2011) : « *Imaginez que vous devez expliquer à quelqu'un ce qu'est un vin végétal et un vin fruité. Pour chacun des vins présentés, vous devez répondre à cette question : pensez-vous qu'il est un bon ou un mauvais exemple de ce qu'est un vin végétal ? Un vin fruité ?* ». Afin de guider les dégustateurs, les principales nuances de ces catégories étaient indiquées entre parenthèses. Les dégustateurs évaluent donc le degré de représentativité ou d'exemplarité de l'échantillon à la famille aromatique sur une échelle linéaire non structurée de 10 cm, allant de « très mauvais exemple » à gauche à « très bon exemple » à droite (**Annexe III**).

Ce type d'évaluation permet de hiérarchiser les vins selon un gradient d'exemplarité à la famille aromatique considérée. Les données sont centrées réduites par juges puis converties en une matrice vins x juges. Une Analyse en Composantes Principales (ACP) sur la matrice est utilisée pour évaluer les consensus entre les juges. La sélection de vins contrastés est réalisée par une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). La différence entre deux groupes de vins sur la note d'exemplarité est confirmée par deux tests non paramétriques : Wilcoxon bivarié (or Mann-Whitney) et Kruskal & Wallis à un niveau de significativité de 95 %. Toutes ces analyses statistiques sont réalisées par le logiciel R (v3.1.1)

Cette évaluation sensorielle a été réalisée sur 70 vins rouges par le *panel 2* (**chapitre 3**) autour de 6 sessions réalisées en deux semaines. Afin de limiter la fatigue des dégustateurs, chaque session contenait de 10 à 12 vins maximum. Du fait de l'expérience du panel, aucun entraînement spécifique n'a été réalisé. Toutefois, une première session préliminaire a été mise en œuvre pour familiariser le panel sur les nuances « poivron » et « herbe/herbe coupée » en solution et dans les vins. Inspiré par Parr *et al.*, (2010), des solutions de standard à 100 µg/L d'IBMP et 10 mg/L de (Z)-3-hexanol dans l'eau distillée leur ont aussi été présentées avant chaque session ; s'ils le souhaitaient, les juges avaient donc la possibilité de ressentir ces solutions.

Les corrélations entre les notes moyennes d'exemplarité obtenues et les concentrations de marqueurs aromatiques potentiels (alcools en C6 et méthoxypyrazines) ont été estimées en part test non paramétrique de Spearman à un niveau de significativité de 95 %. Les traitements statistiques sont réalisés en s'appuyant sur le logiciel XLstat (Addinsoft, Paris, France, 2015).

### 2.5.2. Catégorie aromatique « vin de presse »

L'évaluation de la catégorie aromatique « vin de presse » est réalisée selon une procédure similaire à famille aromatique « végétale » et « fruitée ». La question posée est la suivante : *« Imaginez que vous devez expliquer à quelqu'un ce qu'est un vin de presse. Pour chacun des vins présentés, vous devez répondre à cette question : pensez-vous qu'il est un bon ou un mauvais exemple de ce qu'est un vin de presse »*. Les dégustateurs évaluent donc le degré d'exemplarité de l'échantillon à la catégorie « vin de presse » sur une échelle linéaire d'intervalle structurée (de mauvais à très bon exemple). Pour chaque série évaluée, deux témoins sont présents sur le poste de chaque série afin de guider le dégustateur : un vin de goutte et un vin de presse estimé comme très représentatif de la catégorie sensorielle. Ces échantillons peuvent être sentis à tout moment par les juges s'ils le souhaitent.

Les notes d'exemplarité obtenues sont centrées réduites par juges puis converties en une matrice vins x juges. Leur traitement est réalisé selon les mêmes conditions que pour l'évaluation de l'intensité odorante de descripteur : une analyse de variance (ANOVA) dont les conditions d'applications sont vérifiées au préalable par un test de Levene (homogénéité des variances) et un test de Shapiro-Wilk (normalité des résidus). Le risque  $\alpha$  est aussi fixé à 5 % et les analyses effectuées avec l'aide du logiciel R (v3.1.1).

Ces évaluations ont été réalisées par les *panels 10-15* au cours des **chapitres 10 et 11**.

### 3. ANALYSE INSTRUMENTALE

#### 3.1. Produits chimiques employés

Les solvants de qualité est certifiée CLHP, ont été fournis par VWR Chemicals (Fontenay-sous-Bois, France) : pentane (99,9 %), dichloromethane (99,9 %) et éthanol (99,9 %). Le chlorure de sodium a été fourni par Supelco (Bellefonte, PA, USA).

L'eau ultra-pure a été obtenue à partir du système Milli-Q Plus water system (Millipore, Saint-Quentin-en-Yvelines, France).

La majorité des substances chimiques volatiles utilisées ont été fournies par la firme Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France) : (-)- $\alpha$ -thujone ( $\geq 96$  %);  $\beta$ -cyclocitral ( $\geq 90$  %); (*E*)-2-décenal ( $\geq 95$  %); (*E*)-2-heptenal ( $\geq 96$  %); (*E*)-2-hexenal ( $\geq 99$  %); (*E*)-2-nonenal ( $\geq 97$  %); (*E*)-2-octenal ( $\geq 94$  %); (*E,E*)-2,4-décadienal ( $\geq 89$  %); (*E,E*)-2,4-heptadienal ( $\geq 88$  %); (*E,E*)-2,4-nonadienal (pureté analytique); (*E,E*)-2,6-nonadienal ( $\geq 95$  %); (*E,Z*)-2,6-nonadienal ( $\geq 95$  %); (*Z*)-4-heptenal ( $\geq 99$  %); 3-octanol ( $\geq 99$  %); 1,8-cineole ( $\geq 99$  %); 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine (pureté analytique); 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP) ( $\geq 99\%$ ); 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP) (pureté analytique); 4-fluorobenzaldéhyde ( $\geq 98$  %), décenal ( $\geq 95$  %); heptadienal (pureté analytique); hexanal ( $\geq 98$  %); méthional ( $\geq 97$  %); méthionol ( $\geq 98$  %); nonanal ( $\geq 95$  %); octanal ( $\geq 99$  %); safranal ( $\geq 88$  %); salicylate d'éthyle ( $\geq 99$  %); salicylate de méthyle (pureté analytique).

D'autres ont été fournis par Acros Organic (Fisher Scientific, Parc innovation, Illkirch, France) tels que le (*Z*)-4-heptenol ( $\geq 97$  %) ou la 6-méthyl-5-hepten-2-one ( $\geq 97,5$  %); par TCI (Boerenveldseweg, Zwijndrecht, Belgique) telle que la 2-méthoxy-3-*sec*-butylpyrazine. La (*Z*)-1,5-octadienone a été fournie par Nestlé® (Suisse). L'étalon interne deutéré [ $^2\text{H}_3$ ]-IBMP a été synthétisé selon la procédure décrite par Guillaumie *et al.* (2013). Le O-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)methylhydroxylamine hydrochloride ou PFBHA ( $\geq 99$  %) provenait de chez Alfa Aesar (Karlsruhe, Allemagne).



## 3.2. Techniques d'extraction et de fractionnement

### 3.2.1. Extraction par SPME

Pour l'analyse des composés volatils par SPME, une quantité de solide ou de liquide est introduite dans un vial en verre ambré de 20 mL et dilué par de l'eau ultrapure. Du chlorure de sodium (NaCl) est ajouté afin de faciliter l'effet « salting-out » (**Etude bibliographique, § 2.1.2**). Un ou plusieurs étalons internes sont ensuite additionnés avant de fermer le vial par une capsule à vis en aluminium recouverte d'un septum en PTFE-silicone. L'homogénéisation est effectuée par une agitation manuelle.

L'étape d'extraction est ensuite réalisée par le positionnement de la fibre SPME dans l'espace de tête du vial après perforation du septum. Le type de fibre fournie par Supelco Inc. (Bellefonte, PA, USA), la vitesse d'agitation, la durée et la température d'incubation sont propres à chacune des méthodes développées. Après un temps de désorption de 10 min dans l'injecteur, la fibre est reconditionnée dans un module adapté. L'ensemble du processus est automatisé.

### 3.2.2. Extraction liquide/liquide des vins rouges

750 mL d'un échantillon de vin sont extraits par 80, 50 et 50 mL de dichlorométhane pendant 10 min pour chaque extraction. L'agitation est maintenue constante à 700 rpm. Les deux phases sont transférées dans une ampoule à décanter pour être séparée. La phase organique est collectée, congelée une nuit à -20 °C afin de rompre l'émulsion puis sécher par ajout de sulfate de sodium anhydre. Elle est ensuite concentrée jusqu'aux environs de 20 mL par un évaporateur rotatif Buchi R-114 (Buchi, Rungis, France). L'extrait est ensuite filtré à 0,45 µm avant d'être concentré sous flux d'azote inerte (100 mL/min) dans un tube en verre gradué (Atelier Jean Premont, Bordeaux). Cette dernière étape permet l'obtention d'un extrait organique de vin de 500 µL.

### 3.2.3. Distillation sous vide

350 mL de vin rouge sont déposés dans un ballon à distiller de 1 L. La température du ballon est maintenue à 20 °C par un bac d'eau thermostaté (Büchi Waterbath B-480, Rungis, France). La distillation est réalisée par un vide poussé (1 mbar) créé par une pompe Büchi Rotavapor R-114 (Rungis, France). Le système comprend un condensateur et deux pièges à azote. Le condensateur est maintenu à -20 °C par une circulation de glycol et raccordé à un ballon correspondant au volume 1 ou V1. Les pièges à azote sont maintenus à -180 °C et le condensat du premier piège correspond au volume 2 ou V2. Le volume résiduel du ballon est noté Vr.

La distillation est réalisée pendant 45 minutes, correspondant à 160 mL de volume V1, 80 mL de volume V2 et 100 mL de Vr.

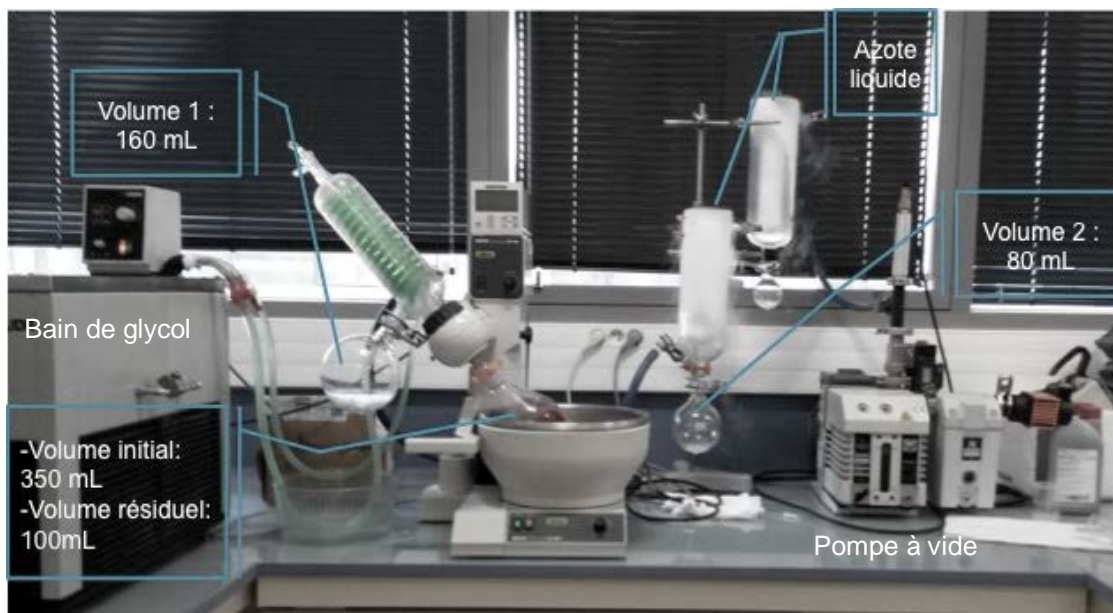


Figure 19. Schéma du système de distillation sous vide.

### 3.2.4. Fractionnement par CLHP semi-préparative

Le fractionnement de l'extrait de vin est assuré par un système Ultimate 3000 semipréparative HPLC (Dionex, Courtabœuf, France) en utilisant une colonne en phase inverse de type Novapak C18 column (300 × 7,8 mm internal diameter [*i.d.*], 6 µm, Waters, Saint Quentin, France) avec une précolonne du même type de phase. Cette procédure est basée sur la méthode décrite par Ferreira *et al.* (1999). Les conditions chromatographiques comprennent

l'injection d'un volume de 250  $\mu$ L avec un débit de 1 mL/min. Le gradient utilisé est le suivant : phase A, eau ; phase B, éthanol ; 0-2 min, 100 % A, 0-50 min, rampe linéaire jusqu'à 100 %.

50 fractions de 1 mL sont collectées et évaluées sur leurs caractéristiques sensorielles par une génération libre de vocabulaire. Les fractions sélectionnées sont mélangées sur la base de leur odeur avec la fraction précédente ou la fraction suivante, formant ainsi un groupe de 2 mL.

### **3.2.5. Extraction liquide/liquide des fractions obtenues par CLHP semi-préparative ou distillation**

Les *fractions obtenues par CLHP semi-préparative* sont diluées dans de l'eau ultra pure afin d'obtenir un titre alcoométrique volumique de 12 % v/v. Elles sont ensuite extraites au dichlorométhane (1/10, 1/5, 1/5 du volume) par agitation du mélange durant 10 minutes. Les phases organiques sont collectées, rassemblées puis séchées par l'ajout de sulfate de sodium anhydre avant d'être concentré sous flux d'azote inerte (100 mL/min) dans un tube en verre gradué (Atelier Jean Premont, Bordeaux) jusqu'à 100  $\mu$ L.

Les *fractions de distillation* sont extraites selon un protocole similaire. Du fait de leur teneur en éthanol (44 % éthanol v/v), la fraction de distillat V2 est diluée par 125 mL d'eau ultra pure pour l'extraction, la fraction V1 est extraite sans dilution (6 % éthanol v/v). Le volume résiduel ( $V_r$ ) est dilué par 115 mL d'eau afin de limiter sa viscosité. Les fractions sont extraites par 20, 10 et 10 mL de dichlorométhane durant 10 min pour chaque extraction. L'extrait obtenu est séché par du sulfate de sodium anhydre puis concentré sous flux d'azote (100 mL/min) jusqu'à 500  $\mu$ L.

## **3.3. Techniques de chromatographie couplée à l'olfactométrie**

### **3.3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O)**

L'appareil utilisé est un Trace GC Ultra gas chromatograph (Thermo Electron SAS, Courtabœuf, France) équipé d'un port « sniffing » (ODO-1 ; SGE, Ringwood, Australie) et d'un détecteur d'ionisation de flamme (FID). Le gaz vecteur utilisé est l'hélium N60 (Air Liquide)

avec un débit constant de 1 ml/min. L'injecteur est maintenu à une température de 240 °C, en mode splitless (1 minute avec un débit de purge de 50 mL/min). 2,5 µL d'extrait sont injectés manuellement. La colonne est une colonne capillaire polaire de type Carbowax 20 M (BP20, SGE, 50 m, 0,25 mm i. d., 0,22 µm d'épaisseur de film) fournie par SGE Analytical Science (Ringwood, Australie). La séparation s'effectue selon un gradient de température : 45 °C pendant une minute, 3 °C/min jusqu'à 250 °C. Un isotherme à la température finale est maintenue pendant 20 minutes. La durée totale de l'acquisition est de 89,33 minutes.

Les indices linéaires de rétention (ILR) sont obtenus par l'injection d'une série d'alcane (C8-C20, Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France) comme cela est décrit par Kovats (1958).

### **3.3.2. Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse et à un mode de détection olfactométrique (MDCPG-SM-O)**

#### **3.3.2.1. Configuration 1**

Cette première configuration a été utilisée pour la caractérisation des fractions de CLHP préparative (*chapitre 4*). La séparation par chromatographie multidimensionnelle est réalisée par un couplage en série de deux Agilent 7890 GC (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) via une ligne de transfert à 230 °C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium N60 (Air Liquide). Les indices linéaires de rétention (ILR) sont obtenus par l'injection d'une série d'alcane (C8-C20, Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France) comme cela est décrit par Kovats (1958).

**La première dimension (<sup>1</sup> D)** est constituée d'une colonne capillaire polaire de type Carbowax 20 M (BP20, SGE, 50 m, 0,25 mm i. d., 0,22 µm d'épaisseur de film). La température de l'injecteur est maintenue à 230 °C en mode splitless (1 minute). Afin de maintenir un débit constant de 1 mL/min, le gradient de pression est le suivant : 314 kPa durant 1 min, augmentation de 1,89 kPa/min jusqu'à 389 kPa avec un maintien 10 minutes à cette pression. Le gradient de température du four est celui-ci : 45 °C durant 1 min, augmentation de 3 °C/min jusqu'à 200 °C et de 5 °C/min jusqu'à 230 °C puis maintien de cette température durant 15 minutes. La durée totale de l'analyse est ainsi de 73,6 minutes.

La sortie de la première dimension est raccordée à une pièce-croix à 5 entrées (Gerstel). 10 % du flux total sont transférés par l'une des voies et par l'intermédiaire d'un capillaire désactivé vers un port d'olfaction (ODO-1 ; SGE, Ringwood, Australie). Un boîtier Gerstel MCS 2 (multicolumn switching system) maintient un flux constant au travers de la pièce-croix de 30 mL/min durant toute l'analyse. Ce flux est stoppé durant le « heart-cutting » afin de permettre le transfert des analytes vers la seconde colonne (<sup>2</sup>D). Une cryofocalisation à -50 °C est réalisée en tête de la deuxième dimension.

**La seconde dimension (<sup>1</sup> D)** est constituée d'une colonne capillaire de polarité plus faible (BP1, SGE, 50 m, 0,25 mm i. d., 1 µm d'épaisseur de film). Le flux de la seconde colonne est régulé par le module Gerstel MCS 2. Le gradient de température débute juste après le « heart-cutting », lorsque le flux du Gerstel MCS2 est rétabli. La rampe de pression est appliquée sur la pièce-croix selon ces conditions : 1 minutes à 179,80 kPa, puis 1,5 kPa/min jusqu'à 245 kPa. La température du four initialement à 45 °C augmente, après 1 minute, de 3 °C/min jusqu'à 180 °C puis de 10 °C/min jusqu'à 230 °C. Un isotherme final est maintenu à cette température durant 20 minutes. Le flux en sortie de deuxième colonne est divisé équitablement, avec l'aide d'une autre crosspiece à 4 entrées (dont l'une est condamnée), entre le spectromètre de masse à temps-de-vol (TOF) et un autre port d'olfaction (ODP III, Gerstel). Pour chacun de ces itinéraires, le transfert est assuré par une ligne chauffé à 230 °C.

**Le spectromètre de masse à temps-de-vol (SM/TOF)** est utilisé en mode impact électronique à 70 eV. L'analyse est effectuée en mode scan sur une plage de 40-250 uma. Les paramètres instrumentaux, l'acquisition des données et leur traitement sont assurés par les logiciels Mass Center System (v 2.4.0), Chromatogram Viewer (v 2.3.0.1000), ChemStation (v B.04.01) software. L'identification des molécules s'appuie sur la comparaison des spectres de masse obtenus avec la bibliothèque NIST 2008 (US National Institute of Standards and Technology – NIST, Gaithersburg, MD, USA)

### 3.3.2.2. Configuration 2

Un autre système de chromatographie multidimensionnelle a été utilisé pour la caractérisation des distillats des vins de presse (**chapitre 8**). Il repose sur une technologie

similaire et des conditions de division de flux identiques. Les chromatographes utilisés sont des Hewlett Packard HP-6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) équipé des ports (ODO-1 ; SGE, Ringwood, Australie) et ODO III (Gerstel).

La **première dimension** (<sup>1</sup> D) est constituée d'une colonne polaire capillaire type Carbowax 20 M (BP20, SGE, 30 m, 0,25 mm i. d., 0,22 µm d'épaisseur de film), le **seconde dimension** (<sup>2</sup>D) d'une colonne apolaire (BPX5, SGE, 60 m, 0,25 mm, 0,25 µm). La pression en tête de première colonne (<sup>1</sup> D) débute à 289 kPa pendant une minute, suivie d'une augmentation de 1,25 kPa par minute jusqu'à une pression finale de 374 kPa, maintenue pendant 20 minutes. Les gradients de température et les autres conditions sont identiques à ceux décrits précédemment.

Le **spectromètre de masse à simple quadripôle** est un Agilent 5973N (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) utilisé en mode d'impact électronique (70 eV). L'acquisition est réalisée en mode scan sur une gamme  $m/z$  400-300. Le traitement des résultats est effectué par le logiciel MSD Chemstation équipé de la bibliothèque NIST 2008 (US National Institute of Standards and Technology – NIST, Gaithersburg, MD, USA)

### 3.4. Méthodes de quantification utilisées

#### 3.4.1. Méthode 1 : 2-alkyl-3-méthoxypyrazines

La quantification des méthoxypyrazines a été réalisée par l'utilisation d'un TriplusRSH auto-sampler (Thermo Electron SAS, Courtabœuf, France) et d'un Trace GC Ultra gas chromatograph (Thermo Electron SAS, Courtabœuf, France), couplé à un spectromètre de masse à triple quadripôle TSQ Quantum XLS (Thermo Electron SAS, Courtabœuf, France)

- SPME :

Pour l'analyse d'**échantillon liquide** (vins et moût), 5 mL sont introduits dans le vial et additionnés de 5 mL d'eau ultra pure (dilution 1/2). Pour l'analyse d'**échantillon solide** (poudre de baie), 3 g sont introduits et supplémentés par 7 mL d'eau ultra pure. 5 g de NaCl sont ajoutés pour chacun des échantillons ainsi que 10 µL d'une solution d'étalon interne d'IBMP deutéré

([ $^2\text{H}_3$ ]-IBMP) à 0,05 mg/L dans l'éthanol. L'extraction est réalisée par une fibre de 2 cm, 50/30  $\mu\text{m}$  divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS). L'échantillon est préincubé 5 min à 50 °C avant d'être exposé à la fibre. L'adsorption a lieu pendant 40 minutes à la même température avec une agitation de 750 tr/min (3 secondes marche, 2 secondes arrêt). Ensuite, la désorption se fait dans l'injecteur maintenu à 240 °C, 3 minutes en mode splitless avec un débit de purge de 50 mL/min. Après 10 minutes, la fibre est reconditionnée à 270 °C durant 5 min dans le module du passeur réservé à cet effet.

- CPG-SM:

Le gaz vecteur utilisé pour l'analyse est l'hélium N60 (Air Liquide) avec un débit constant de 1 mL/min. L'analyse est réalisée par l'utilisation d'une colonne capillaire apolaire de type ZB-1MS column (100 % polydimethylsiloxane, 60 m ; 0.25 mm ; 1  $\mu\text{m}$ ) fournie par Phenomenex (Le Pecq, France) et connectée à une précolonne polaire de type BP20 (polyethylene glycol, 2 m ; 0.25 mm ; 0.22  $\mu\text{m}$ ) fournie par SGE Analytical Science (Victoria, Australia) au moyen d'un Graphpack 3D/2connector (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany). Le gradient de température utilisé est le suivant : 45 °C durant 5 minutes, augmentation de 3 °C/min jusqu'à 180 °C puis 5 °C/min jusqu'à 240 °C et 30 °C/min jusqu'à 280 °C avec un isotherme de 10 minutes. La ligne de transfert des analytes vers le spectromètre de masse est maintenue à 285 °C.

Le mode d'ionisation utilisé est l'impact électronique (EI) avec une énergie de 30 eV. La résolution est programmée à 0,7 Da ; la largeur de scan à  $m/z$  0,1 ; le temps de scan à 0,05 s. La pression du gaz de collision (Argon) est établie à 1 mTorr avec une énergie de collision variable, de 5 à 15 V. Trois transitions sont enregistrées pour chacun des composés : une pour la quantification et deux pour la qualification de la molécule (**Tableau 13**). Les données ont été enregistrées et traitées par le logiciel Xcalibur software (v 2.1.0). Toutes les analyses réalisées ont été systématiquement effectuées au minimum en double (n=2).



**Tableau 13. Temps de rétention, transitions et énergies de collision pour les méthoxypyrazines quantifiées et pour l'étalon interne utilisé.**

| Composés                             | Temps de rétention (min) | Fragmentation de masse (m/z) | Énergie de collision (Volt) |
|--------------------------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| IPMP                                 | 29,75                    | 152 → 137                    | 5                           |
|                                      |                          | 137 → 109                    | 10                          |
|                                      |                          | <b>137 → 105</b>             | 15                          |
| SBMP                                 | 32,40                    | 138 → 124                    | 10                          |
|                                      |                          | <b>138 → 119</b>             | 10                          |
|                                      |                          | 124 → 94                     | 10                          |
| IBMP                                 | 32,62                    | 151 → 95                     | 10                          |
|                                      |                          | 124 → 95                     | 10                          |
|                                      |                          | <b>124 → 94</b>              | 10                          |
| [ <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ]-IBMP | 32,58                    | <b>127 → 95</b>              | 10                          |

\* Les transitions en gras sont celles utilisées pour la quantification.

- Validation de la méthode :

La méthode a été validée dans un vin rouge de Bordeaux de qualité ordinaire. La **linéarité** a été estimée par la méthode des ajouts dosés selon 7 modalités : témoin ; 1 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 et 100 ng/L de méthoxypyrazines. L'aire du pic chromatographique mesurée est rapportée à l'aire de l'étalon interne. Chaque point est analysé 3 fois (n=3). La **répétabilité**, exprimée en écart type relatif à la moyenne (% RSD), est mesurée à trois niveaux de concentration (5, 10 et 25 ng/L) par plusieurs injections (n=6) de chacune des modalités. Le **recouvrement**, exprimé en écart type relatif à la valeur théorique (% RSD), est estimé par l'ajout de 5, 10 et 25 ng/L de méthoxypyrazines à un vin rouge dont la concentration avait été préalablement mesurée. 3 répétitions sont effectuées (n=3). Enfin, la **limite de détection** et la **limite de quantification** sont déterminées par le rapport signal/bruit, respectivement égal à 3 et 10.

L'incertitude de la méthode a ensuite été calculée en se basant sur une approche de type **bottom-up** dont la méthodologie est intégrée aux résultats.



### 3.4.2. Méthode 2 : alcools en C6, 1,4 et 1,8-cinéole, (Z)-4-heptenol, $\alpha$ -thujone, salicylate de méthyle et d'éthyle

Cette méthode d'analyse par SPME-CPG-SM fait intervenir un passeur de type Combi PAL sample (CTC Analytics, Zwingen, Suisse), un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890N ainsi qu'un spectromètre de masse Agilent HP 5973 N. Elle permet la quantification des composés appartenant à plusieurs familles chimiques : alcools en C6, 1,8-cinéole, salicylate de méthyle et (-)- $\alpha$ -thujone.

- SPME:

L'extraction par SPME (vin et moût) est réalisée à l'aide d'une fibre de 2 cm, 50/30  $\mu$ m divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS). Après une période de pré incubation de 5 min à 40 °C, l'adsorption s'effectue 30 min à cette même température. L'agitation est maintenue constante à 500 rpm (3 secondes marche, 2 secondes arrêt). La désorption a lieu dans l'injecteur maintenu à 240 °C en mode splitless (3 minutes) avec un débit de purge de 50 mL/min. Après 10 minutes, la fibre est reconditionnée 10 minutes à 250 °C.

- CPG-SM:

Le gaz vecteur utilisé pour l'analyse chromatographique est l'Helium N60 (Air Liquide) avec un débit constant de 1 mL/min. La colonne utilisée est une colonne capillaire de type Carbowax 20 M (Polyéthylène glycol) : BP20, 50 m, 0,25 mm *i.d.*, 0,22  $\mu$ m (SGE, Ringwood, Australia). Le gradient de température est le suivant : 45 °C durant 5 minutes, augmentation de 3 °C/min jusqu'à 180 °C puis de 20 °C/min jusqu'à 240 °C avec un isotherme final de 10 minutes à cette température.

Le spectromètre de masse, connecté par une ligne de transfert à 230 °C, est utilisé en mode impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV. L'analyse est réalisée en mode SIM avec, pour chacun des composés analysés, un ion de quantification et deux ou trois ions de qualification qui sont enregistrés (**Tableau 14**). Le 3-octanol est utilisé comme étalon interne. Le Dwell time est ajusté pour chaque segment afin d'obtenir un nombre de 3 scans/seconde environ. L'acquisition et le traitement des données sont effectués par le logiciel

MSD Chemstation software (version B04.03). Chaque échantillon est systématiquement analysé en double (n=2).

Les paramètres de validation de la méthode, ainsi que les limites de détection et de quantifications, déterminés selon la procédure décrite précédemment (§ 3.4.1) sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 14. Paramètres de validation de la méthode 2 de quantification : <sup>2</sup> limite de détection et de quantification, <sup>3</sup> linéarité, <sup>4</sup> répétabilité (n=5) et <sup>5</sup> recouvrement (n=3). <sup>1</sup> Indices linéaires de rétention sur BP 20 obtenus à partir de <sup>a</sup> [www.flavornet.org](http://www.flavornet.org) ; <sup>b</sup> <http://webbook.nist.gov/chemistry>; <sup>c</sup> [www.pherobase.com](http://www.pherobase.com); <sup>d</sup> détermination expérimentale.**

| Nom                   | ILR <sup>1</sup>  | Ions<br>(m/z)              | LOQ/LOD <sup>2</sup><br>(µg/L) | Gamme<br>(µg/L) | Linéar. <sup>3</sup><br>(R <sup>2</sup> ) | Répét. <sup>4</sup><br>(% RSD) | Recouv. <sup>5</sup><br>(% RSD) |
|-----------------------|-------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------|---|--------------------------------|---------------------------------|
| 1,4-cinéole           | 1186 <sup>a</sup> | <b>111</b> , 108, 139, 154 | 0,03/0,01                      | 0,1-10          | 0,999                                     | 5,84                           | 97,2                            |
| 1,8-cinéole           | 1213 <sup>a</sup> | <b>108</b> , 111, 139, 154 | 0,05/0,02                      | 0,1-10          | 0,998                                     | 2,24                           | 95,6                            |
| Hexanol               | 1360 <sup>a</sup> | <b>56</b> , 43, 69, 84     | 7,8/2,4                        | 100-100000      | 0,994                                     | 9,62                           | 131,2                           |
| (E)-3-Hexenol         | 1386 <sup>a</sup> | <b>67</b> , 41, 55, 82     | 8,5/3,1                        | 1-100           | 0,998                                     | 4,14                           | 98,3                            |
| (Z)-3-Hexenol         | 1391 <sup>a</sup> | <b>67</b> , 41, 55, 82     | 1,2/0,4                        | 1-500           | 0,998                                     | 6,14                           | 97,1                            |
| 3-octanol (EI)        | 1396 <sup>d</sup> | <b>59</b> , 83, 101        | -                              | -               | -   | -                              | -                               |
| (E)-2-Hexenol         | 1400 <sup>c</sup> | <b>57</b> , 41, 67, 82     | 3,6/1,1                        | 1-100           | 0,999                                     | 2,84                           | 95,8                            |
| (Z)-2-Hexenol         | 1420 <sup>b</sup> | <b>57</b> , 41, 67, 82     | 4,2/1,3                        | 1-100           | 0,999                                     | 1,13                           | 99,7                            |
| α-thujone             | 1435 <sup>d</sup> | <b>110</b> , 95, 81        | 0,03/0,01                      | 0,1-10          | 0,999                                     | 3,37                           | 97,5                            |
| (Z)-4-Heptenol        | 1504 <sup>d</sup> | <b>81</b> , 55, 68, 96     | 0,31/0,1                       | 0,5-50          | 0,990                                     | 2,92                           | 97,3                            |
| Salicylate de méthyle | 1745 <sup>a</sup> | <b>152</b> , 92, 120       | 1,05/0,35                      | 1-100           | 0,998                                     | 2,87                           | 104,5                           |
| Salicylate d'éthyle   | 1784 <sup>a</sup> | <b>120</b> , 92, 166       | 0,41/0,13                      | 1-100           | 0,993                                     | 5,84                           | 98,7                            |

\* Les ions mentionnés en gras sont les ions de quantification.

### 3.4.3. Méthode 3 : alcools en C6, 6-methyl-5-hepten-2-one, méthionol, méthional, (Z)-4-heptenol

Cette méthode d'analyse par SPE-CPG-SM utilise un passeur automatique (liquide) Agilent, un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890N ainsi qu'un spectromètre de masse Agilent HP 5973 N.

- SPE :

Une cartouche Lichrolut® EN (40-120 µm, 6 mL, 200 mg Merck Chimie SAS, Fontenay-sous-Bois, France) est placée sur un système Vac Elut (Varian) fonctionnant sous un vide de -20 kPa environ. La cartouche est conditionnée en percolant 5 mL de dichlorométhane, 5 mL de méthanol et 2x5 mL d'un mélange eau/éthanol à 10 % v/v. Un volume de 50 mL de vin est ensuite percolé sur la cartouche à un débit de 2 mL/min. La cartouche est rincée par un volume de 2x5 mL d'eau puis séchée par circulation d'air pendant 15 minutes. La désorption des analytes est réalisée par 2 mL de dichlorométhane. La phase organique est ensuite séchée avec du sulfate de sodium anhydre puis concentré sous flux d'azote jusqu'à 500 µL.

- CPG-SM :

2 µL d'extrait organique sont introduits dans l'injecteur maintenu à 240 ° C. L'analyse réalisée selon les mêmes conditions que celles décrites dans la **méthode 2** (§ 3.4.2). Chaque échantillon est systématiquement analysé en double (n=2).

Les paramètres de validation de la méthode sont présentés dans le **Tableau 15**.

Tableau 15. Paramètres de validation de la méthode 3 de quantification : <sup>2</sup> limite de détection et de quantification, <sup>3</sup> linéarité, <sup>4</sup> répétabilité ( $n=5$ ) et <sup>5</sup> recouvrement ( $n=3$ ). <sup>1</sup> Indices linéaires de rétention sur BP 20 obtenus à partir de <sup>a</sup> <http://webbook.nist.gov/chemistry>; <sup>b</sup> détermination expérimentale.

| Nom                     | ILR <sup>1</sup>  | Ions<br>( $m/z$ )            | LOQ/LOD <sup>2</sup><br>( $\mu\text{g/L}$ ) | Gamme<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | Linéar. <sup>3</sup><br>( $R^2$ ) | Répét. <sup>4</sup><br>(% RSD) | Recouv. <sup>5</sup><br>(% RSD) |
|-------------------------|-------------------|------------------------------|---|------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 6-methyl-5-hepten-2-one | 1340 <sup>a</sup> | <b>108</b> , 43, 69, 55, 126 | 0,35/0,15                                   | 0,1-10                       | 0,998                             | 4,71                           | 94,4                            |
| Hexanol                 | 1360 <sup>a</sup> | <b>56</b> , 43, 69, 84       | 2,52/0,84                                   | 100-100000                   | 0,994                             | 8,62                           | 127,0                           |
| (E)-3-Hexenol           | 1386 <sup>a</sup> | <b>67</b> , 41, 55, 82       | 1,08/0,36                                   | 1-100                        | 0,998                             | 4,62                           | 102,1                           |
| (Z)-3-Hexenol           | 1391 <sup>a</sup> | <b>67</b> , 41, 55, 82       | 0,78/0,26                                   | 1-500                        | 0,998                             | 2,14                           | 99,1                            |
| 3-octanol ( <b>EI</b> ) | 1396 <sup>b</sup> | <b>59</b> , 83, 101          | -   | -                            | -                                 | -                              | -                               |
| (E)-2-Hexenol           | 1400 <sup>c</sup> | <b>57</b> , 41, 67, 82       | 1,04/0,32                                   | 1-100                        | 0,999                             | 7,68                           | 92,2                            |
| (Z)-2-Hexenol           | 1420 <sup>b</sup> | <b>57</b> , 41, 67, 82       | 0,58/0,19                                   | 1-100                        | 0,999                             | 5,86                           | 99,4                            |
| Methional               | 1460 <sup>a</sup> | <b>104</b> , 48, 61, 71      | 1,78/0,59                                   | 0,5-50                       | 0,998                             | 8,65                           | 93,4                            |
| (Z)-4-Heptenol          | 1504 <sup>b</sup> | <b>81</b> , 55, 68, 96       | 0,31/0,1                                    | 0,5-50                       | 0,990                             | 2,92                           | 97,3                            |
| Methionol               | 1710 <sup>a</sup> | <b>106</b> , 47, 61, 76      | 5,48/1,83                                   | 500-2000                     | 0,988                             | 5,03                           | 105,1                           |

\* Les ions mentionnés en gras sont les ions de quantification.

### 3.4.4. Méthode 4 : composés carbonylés

Cette méthode d'analyse par SPME-CPG-SM fait intervenir un passeur de type Combi PAL sample (CTC Analytics, Zwingen, Suisse), un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890N ainsi qu'un spectromètre de masse Agilent HP 5973N

- SPME :

10 mL d'échantillon de vin sont déposés dans un vial SPME en verre ambré de 20 mL en présence de 10 µL d'une solution d'étalon interne (4-fluorobenzaldéhyde) à 1 mg/L et 100 µL d'une solution de pFBHA à 50 g/L. Ce protocole repose sur des tests préliminaires d'optimisation de méthode au laboratoire.

L'extraction est réalisée par une fibre Supelco (Bellefonte, PA, USA) 50 : 30 mm en DVB/PDMS, Stableflex 23 Ga. L'échantillon est préincubé 5 minutes à 70 °C. Puis l'adsorption se fait pendant 50 minutes avec une agitation de la fibre (500 rpm) par cycle de 5 secondes « on » et 2 secondes « off ». La désorption dans l'injecteur chauffé à 240 °C se fait pendant 10 minutes en mode splitless. La fibre est ensuite reconditionnée dans une chambre prévue à cet effet pendant 10 minutes à 250 °C.

- CPG-SM :

Le gaz vecteur utilisé pour l'analyse chromatographique est l'Helium N60 (Air Liquide) avec un débit constant de 1 mL/min. La colonne capillaire utilisée est une SGE BPX5 (50 m, 0,25 mm, 0,22 µm). Le gradient de température débute à 50 °C pendant 5 minutes puis augmente jusqu'à 110 °C à raison de 20 °C par minute. Le gradient passe ensuite à 3 °C/min jusqu'à atteindre 230 °C. Le four est ensuite réglé à 30 °C/min afin d'atteindre la température finale maintenue pendant 10 minutes. Le temps total d'acquisition est de 57 minutes. Le spectromètre de masse, connecté par une ligne de transfert à 230 °C, est utilisé en mode impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV.

L'analyse est réalisée en mode SIM sur l'ion spécifique des énantiomères d'oximes formés (**Tableau 16**).

**Tableau 16. Récapitulatif des composés carbonylés analysés et de leur odeur mentionnant le temps de rétention des oximes formées avec le pFBHA et son ion caractéristique.**

| Composé                | Odeur                           | Temps de rétention            | Ion (m/z) |
|------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------|
| <i>Alkanals</i>        |                                 |                               |           |
| Hexanal                | Herbe coupée                    | 25,25/25,40                   | 239       |
| Heptanal               | Citron, rance, gras             | 28,70/28,87                   | 239       |
| Octanal                | Peau de citron, verte           | 32,34/32,42                   | 239       |
| Nonanal                | Peau d'agrumes, verte           | 35,86                         | 239       |
| Decanal                | Savonneuse, suif, verte         | 39,27                         | 239       |
| <i>Alkenals</i>        |                                 |                               |           |
| (E)-2-Hexenal          | Pomme verte                     | 27,82/27,90                   | 250       |
| (E)-2-Heptenal         | Grasse, verte                   | 31,45/31,72                   | 250       |
| (E)-2-Octenal          | Verte, noix, grasse             | 34,90/35,28                   | 250       |
| (E)-2-Nonenal          | Concombre, oxydé, papier        | 38,76                         | 250       |
| (E)-2-Decenal          | Suif, orange                    | 41,6/42,06                    | 250       |
| (Z)-4-Heptenal         | Verte, croupie, grasse          | 28,66/(28,84)                 | 278       |
| <i>Alkadienals</i>     |                                 |                               |           |
| (E,E)-2,4-Heptadienal  | Verte                           | 34,15/34,38                   | 276       |
| (E,E)-2,4-Nonadienal   | Concombre, feuilles vertes      | 40,64/41,44                   | 276       |
| (E,E)-2,6-Nonadienal   | Concombre, cire, verte          | 37,96/38,26                   | 250       |
| (E,Z)-2,6-Nonadienal   | Punaise écrasée, verte          | 38,10                         | 250       |
| (E,E)-2,4-Decadienal   | Huileuse, friture, papier mâché | 43,90/44,82                   | 276       |
| <i>Alkadienone</i>     |                                 |                               |           |
| (Z)-1,5-octadien-3-one | Feuille de géranium             | 29,19/(28,67)/(28,84)/(29,72) | 290       |

\* L'oxime dont le temps de rétention est entre parenthèses n'est pas considérée pour la quantification.

Toutes les analyses sont systématiquement réalisées en duplicate (n=2)

**PREMIERE PARTIE :**

**APPROCHE SENSORIELLE ET  
ANALYTIQUE DE LA FAMILLE  
AROMATIQUE DU « VEGETAL »  
DANS LES VINS**

# **Chapitre 1. Étude du champ lexical couvert par le descripteur « végétal » dans les vins rouges**

## **1. INTRODUCTION**

Souvent, la question est posée : « *Qu’entendons-nous exactement par le descripteur “végétal” lorsque l’on qualifie l’arôme d’un vin rouge ?* ». Ce terme, nous l’avons vu (**Etude bibliographique, § 1.2**), est très largement usité en œnologie. Il fait partie intégrante du lexique de la dégustation et constitue un attribut permettant aux experts de discriminer les vins. Toutefois, son emploi ne fait pas l’objet d’un consensus, ce qui contraste avec sa fréquence d’utilisation (Solomon, 1990 ; Perrin, 2008). Ainsi, cette question est bien loin de concerner uniquement le jugement des consommateurs novices ou des néophytes, mais se justifie aussi auprès des professionnels.

De plus, le descripteur « végétal » n’est pas un attribut sensoriel précis dans le sens où il ne désigne pas directement une odeur particulière. Si nous le remettons dans son contexte sémantique, ce terme ne désigne pas autre chose que le règne végétal dans son ensemble. Employé sous la forme que nous lui connaissons, il est donc de nature catégorielle et fait référence à une famille aromatique que nous avons appréhendée dans notre étude bibliographique.

Ce premier chapitre, en se basant sur des travaux d’analyse sensorielle, avait donc pour objectif de mieux caractériser la diversité de nuances aromatiques associée au descripteur « végétal » des vins rouges.



## **2. APPROCHE PAR L'ANALYSE SENSORIELLE DE LA FAMILLE AROMATIQUE DU VÉGÉTAL**

### **2.1. Première approche descriptive de nuances aromatiques autour d'une présélection de vins**

#### **2.1.1. Sélection des vins**

La présélection des vins amenés à représenter les modèles du descripteur « végétal » a été réalisée avec le concours de professionnels de la filière (viticulteurs, œnologues-conseil, directeurs techniques), soit une catégorie de personnes étant à même de couvrir un spectre plus large que les consommateurs dans son appréhension. Ces personnes étaient majoritairement de la région bordelaise et avaient pour consigne de sélectionner les vins qu'ils estimaient présenter des nuances aromatiques végétales, des vins « végétaux » au sens large du terme, selon leur propre appréciation et en dehors de tout jugement hédonique (celui-ci pouvant être positif ou négatif). La majorité des personnes sondées ont aussi rapporté la perception de nuances aromatiques végétales, difficiles à décrire, échappant parfois à leurs références habituelles.

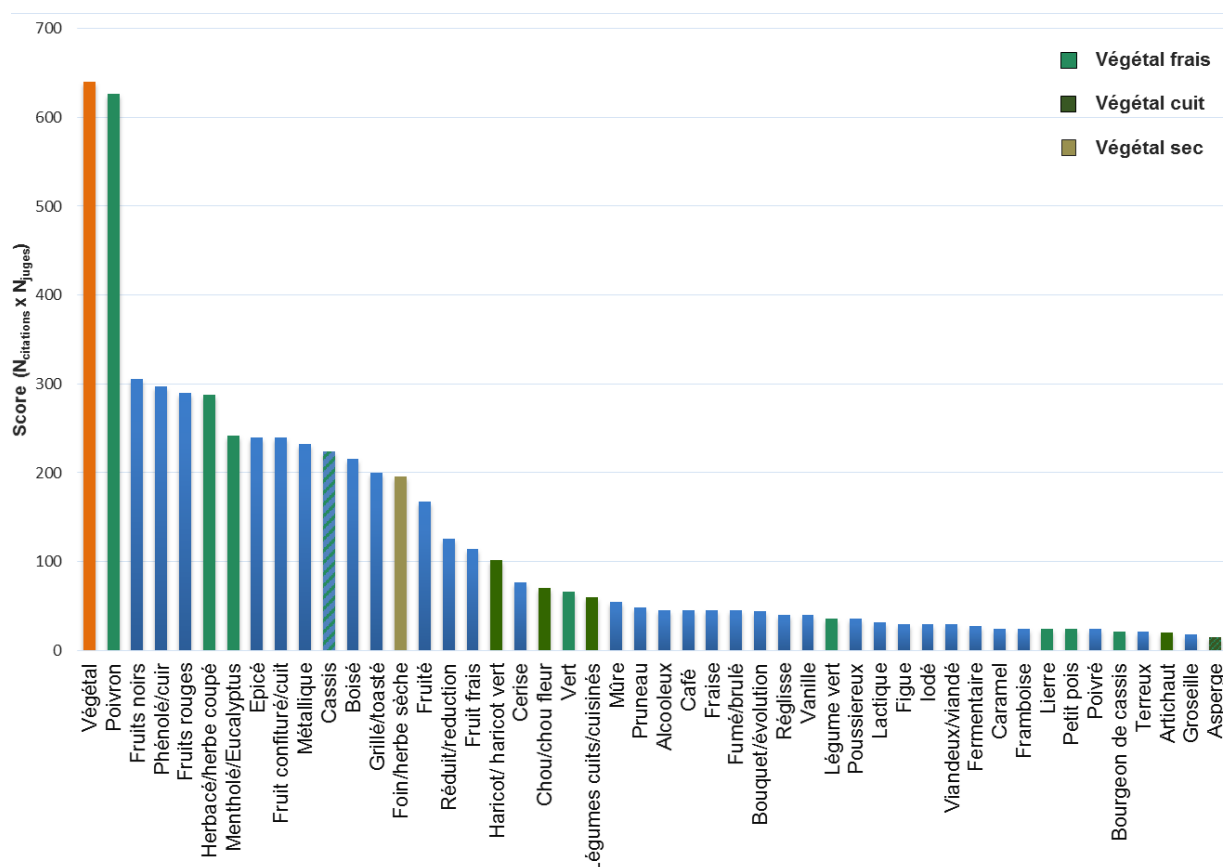
En outre, les 22 vins sélectionnés étaient situés dans des gammes de millésimes de 2008 à 2013 (millésime en cours d'élevage), majoritairement de la région bordelaise et avec une prédominance de cépages de la famille des Carmenets. Un grand cru médocain d'un millésime plus ancien (1992), aux conditions climatiques difficiles, a aussi été retenu dans cette présélection.

#### **2.1.2. Évaluation des vins sélectionnés par génération libre de vocabulaire**

Une génération libre de vocabulaire a été réalisée à partir des vins présélectionnés par un panel restreint de 12 personnes (*panel 1*), mais dont chacun des membres répondait à la définition de l'expert produit selon Nicod *et al.* (2006). Les aptitudes accrues qu'ils possèdent en matière de verbalisation constituent un avantage certain pour la réalisation de cette épreuve. En effet, malgré son apparente simplicité, l'attribution d'un nom à une perception olfactive est

une tâche d'une grande difficulté qui nécessite souvent une très bonne expérience sensorielle sur le plan des associations nom/odeur (Cain, 1979 ; Stevenson *et al.*, 2003).

La séance d'évaluation sensorielle des vins a permis d'obtenir un très grand nombre de descripteurs. Après l'élimination des termes inadaptes (hédonique, quantitatifs ou relatif à la saveur) et le rassemblement d'une partie d'entre eux sur la base des synonymes, 118 descripteurs ont pu être conservés (**Figure 20**).



**Figure 20. Principaux descripteurs obtenus par génération libre de vocabulaire, exprimés en fonction de leur score ( $N_{citations} * N_{juges}$ ) et repérés selon les 3 sous-familles associées au descripteur végétal : végétal frais, cuit et sec.**

Les résultats obtenus montrent que le descripteur « végétal », qui fait directement référence à la famille aromatique, possède le plus haut score puisqu'il comptabilise 64 citations générées par 10 des 12 experts du panel. Cela tient probablement, en grande partie, à la difficulté de verbalisation que nous avons énoncée ; les dégustateurs ne parvenant pas à nommer correctement l'odeur sont cependant en mesure de définir la catégorie à laquelle elle appartient (Lawless & Engen, 1977) : celle du « végétal » dans notre cas.

Néanmoins, d'autres termes pouvant être apparentés à cette famille aromatique possèdent aussi un score important. Le cas du descripteur « poivron », second descripteur cité, recueille 57 citations par 11 juges sur 12. De plus, les termes « herbacé, herbe coupée » (36 citations par 8 juges) sont également abondamment cités. Ils représentent les principaux membres de la sous-famille du « végétal frais » selon Noble *et al.*, 1987 (**Etude bibliographique**, § 1.2.1). Il n'y rien d'étonnant à retrouver ces deux descripteurs « poivron » et « herbe coupée » avec un bon niveau de représentation puisque ces termes sont couramment employés par les professionnels pour évoquer les nuances caractéristiques du descripteur « végétal », qui se rapporte, le plus souvent, au lexique appris durant leur formation. Ces descripteurs sont aussi fréquemment mis en évidence dans des études sensorielles sur les vins rouges (Chapman *et al.*, 2004 ; Preston *et al.*, 2008 ; Robinson *et al.*, 2011a ; Hjelmeland *et al.*, 2013 ; King *et al.*, 2014) avec, toutefois, une attribution plus spécifique du terme « herbacé » pour les vins blancs (McCloskey *et al.*, 1996 ; Parr *et al.*, 2007 ; Campo *et al.*, 2008). Cependant, aucune des différentes études citées ne regroupe tous ces descripteurs dans un même temps. De plus, la majorité des panélistes mêle simultanément des évaluations sur un attribut spécifique (poivron par exemple) à des évaluations sur des sous-familles (vert frais) voire à la famille elle-même (végétal).

Les termes « mentholé/eucalyptus » sont aussi assez fréquemment cités (38 citations par 7 juges). Ce descripteur est généralement employé pour traduire une réalité sensorielle bien connue des vins rouges australiens ou californiens (Preston *et al.*, 2008 ; Robinson *et al.*, 2011a ; Hjelmeland *et al.* ; 2013). Avec 38 citations, il apparaît aussi comme un descripteur constitutif du « végétal » des vins rouges français et précisément au sein de la sous-famille « végétal frais ».

Au second plan, se trouve le terme « foin/herbe sèche » (28 citations par 7 juges) qui représente à lui seul la sous-catégorie « végétal sec ». De même, la sous-catégorie du « végétal cuit », bien représentée dans certaines études (Preston *et al.*, 2008 ; Bindon *et al.*, 2013 ; King *et al.*, 2014), est associée aux termes « haricot/haricot vert » et « chou/chou-fleur », voire « artichaut » ou « asperge » de manière plus marginale. Bien que Noble *et al.*, (1987) classent les notes « asperge » dans cette famille, son analogie avec le poivron vert dans les vins de Sauvignon blanc (Coeztee *et al.*, 2012) tend à l'associer au végétal frais. Cependant, Makhotkina *et al.*, (2012) distinguent les vins de Sauvignon à l'arôme de végétal frais de ceux au végétal plus lourd dont l'odeur d'asperge en conserve est, selon eux, la représentante. Pour être précis, il conviendrait alors de distinguer ce type d'asperge (plutôt blanche) à l'asperge verte et fraîche.

Enfin, l'analogie entre le « réduit » et les nuances de végétal cuit mériterait aussi d'être approfondie ; tout comme la relation qu'entretient l'arôme de cassis, appartenant à la catégorie fruitée, avec celle du « végétal frais ».

### 3. CONCLUSION

Il a été possible, dans ce premier chapitre introductif, d'approcher d'un point de vue sensoriel la famille aromatique du « végétal » et de définir les nuances qu'elle est susceptible de recouvrir dans les vins rouges français. L'approche développée a ainsi permis de souligner l'importance de cette famille d'odeur dans le champ lexical des professionnels du vin, ainsi que de montrer qu'elle permettait de traduire une réalité sensorielle reconnue par les experts. Cette observation contraste avec celle Brochet *et al.*, (2001) qui ont montré que la majorité des termes employés par les experts sont généralement propres à un individu et rarement partagés avec ses collègues ; elle contraste aussi avec les travaux de Lawless (1984) qui révèlent que les experts ne sont pas capables de reconnaître les vins en se basant sur la description d'autres experts puisque, dans notre cas, ceux qui ont réalisé la pré-sélection des vins étaient différents de ceux qui les ont évalués.

De plus, l'utilisation du terme « végétal » est même préférée par rapport à celle des attributs sensoriels qu'il recouvre. Il apparaît toutefois que la sous-famille du végétal « frais », regroupant les nuances « poivron vert », « herbacé/herbe coupée » est majoritaire et reste celle qui permet le mieux de décrire la réalité sensorielle des vins sélectionnés comme « végétaux » par les experts. Néanmoins, au sein de cette sous-famille, une proportion notable de vin rouges français ont aussi été décrits avec des nuances « mentholé/eucalyptus », plutôt réservées, généralement, aux vins australiens ou californiens.

A la suite de cela, la relation entretenue entre ces nuances typiques de « poivron vert » et d'« herbe coupée » et les marqueurs moléculaires que nous leur connaissons à ce jour – méthoxypyrazines, et particulièrement IBMP, pour les premières ; alcools en C6 pour les secondes (**Etude bibliographique, § 1.3.1, § 1.3.2**) – a été étudiée et constitue l'objet des chapitres suivants.

# **Chapitre 2. Développement d'une méthode de quantification de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines par SPME-CPG couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)**

## **1. INTRODUCTION**

C'est sans surprise que, dans le chapitre précédent, nous avons confirmé la contribution des nuances de poivron à la famille aromatique du « végétal » des vins rouges. Cependant, compte tenu du lien étroit entre celles-ci et les méthoxypyrazines (**Etude bibliographique, § 1.3.1**), il nous a semblé pertinent de considérer, de manière détaillée, l'implication de ces molécules dans l'expression végétale des vins. Pour cela, il était nécessaire de disposer d'une méthode fiable de quantification, permettant la détermination précise de leur teneur dans les vins tout en intégrant l'incertitude du dosage.

En effet, celui des méthoxypyrazines dans le vin est relativement compliqué et requière l'application de méthodes optimisées ; leur faible teneur (de l'ordre de quelques ng/L) combinée à la complexité de la matrice en sont les causes principales. En réponse à cela, de nombreuses méthodes ont été développées, présentant parfois des limites en termes de fidélité ou de justesse, mais aussi en nombre de composés considérés au sein de cette famille chimique (**Etude bibliographique, § 2.3**).

Les tests préliminaires que nous avons initialement réalisés avec une configuration classique (SPME-CPG-SM) de marque Agilent (6890/5973N) ont montré leur efficacité pour le dosage dans un milieu modèle, dans le moût, mais aussi leur limite dans une matrice plus complexe telle que le vin. Les limites de détection des méthoxypyrazines se situaient aux environs de 10-15 ng/L, mais avec un manque de spécificité dû à la présence de composés interférents plus ou moins coélus.

Aussi, nous avons fait le choix de conserver la technique de SPME pour la partie extractive – cette méthode ayant démontré son efficacité dans un grand nombre d'études spécifiques à ces composés –, tout en cherchant à l'optimiser. Nous avons également décidé de nous appuyer sur l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) afin de surmonter les problèmes de spécificité et atteindre des limites de détection et de quantification en accord avec les seuils de perceptions extrêmement bas des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines.

## 2. OPTIMISATION DE LA MÉTHODE DE QUANTIFICATION

### 2.1. Optimisation des paramètres de SPME

#### 2.1.1. Protocole expérimental

L'optimisation des *paramètres de SPME* a été réalisée sur dans une solution modèle de vin rouge (12 % éthanol v/v ; 5 g/L d'acide tartrique ; pH 3,5 ajusté par ajout de NaOH) supplémentée à 500 ng/L d'IBMP, IPMP et de sBMP. 10 mL de cette solution sont transférés dans le vial SPME contenant 3 g de NaCl.

La recherche de l'optimum sur les paramètres d'incubation (durée, température et vitesse d'agitation) a été réalisée par un plan d'expérience de Box-Behnken avec trois niveaux pour chacun des facteurs en cohérence avec les précédentes méthodes d'analyse (**Etude bibliographique, § 2.3**). Toutes les expériences ont été traitées par le logiciel Minitab 16 software.

**Tableau 17. Plan d'expérience de Box-Behnken pour l'optimisation des conditions d'analyse par SPME-CPG-MS/MS de méthoxypyrazines : température d'incubation, temps d'incubation et vitesse d'agitation.**

| Température d'incubation (°C) | Temps d'extraction (min) | Vitesse d'agitation (tr/min) |
|-------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 40                            | 20                       | 500                          |
| 80                            | 60                       | 500                          |
| <b>60</b>                     | <b>40</b>                | <b>500</b>                   |
| 80                            | 20                       | 500                          |
| 60                            | 60                       | 250                          |
| 40                            | 60                       | 500                          |
| <b>60</b>                     | <b>40</b>                | <b>500</b>                   |
| 80                            | 40                       | 250                          |
| 40                            | 40                       | 250                          |
| 60                            | 20                       | 250                          |
| 40                            | 40                       | 750                          |
| 60                            | 20                       | 750                          |
| <b>60</b>                     | <b>40</b>                | <b>500</b>                   |
| 60                            | 60                       | 750                          |
| 80                            | 40                       | 750                          |

\* Le plan (randomisé) présente l'ordre d'injection de la solution supplémentée, les lignes avec les nombres en gras montrent la réplication (n=3) du point central.

Les effets du sel et du niveau de dilution ont été mesurés sur un vin rouge à 500 ng/L de méthoxypyrazines par plan factoriel complet (**Tableau 18**) comprenant deux niveaux pour la quantité de sel (3 et 5 g) et cinq niveaux pour le facteur de dilution (1 ; 2 ; 4 ; 8 ; 16).

**Tableau 18. Plan factoriel complet pour l'optimisation du facteur de dilution et de la quantité de NaCl pour la quantification de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines.**

| Facteur de dilution | Quantité de NaCl (g) |
|---------------------|----------------------|
| 16                  | 5                    |
| 8                   | 5                    |
| 1                   | 3                    |
| 16                  | 3                    |
| 2                   | 3                    |
| 2                   | 5                    |
| 8                   | 3                    |
| 4                   | 5                    |
| 1                   | 5                    |
| 4                   | 3                    |

### 2.1.2. Type de fibre SPME et pH

Le premier point d'optimisation a concerné les modalités d'extraction des composés par SPME. Le choix du **type de fibre** a découlé naturellement d'un consensus dans la littérature concernant la pertinence du polymère de divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) par rapport aux autres polymères commerciaux dans leur capacité d'adsorption de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines (Hartmann *et al.*, 2002 ; Chapman *et al.* 2004 ; Kotseridis *et al.*, 2008 ; Goldelmann *et al.*, 2008)

Concernant le **pH**, malgré le fait que les 2-méthoxy-3-alkylpyrazines soient des bases organiques qui peuvent être protonées à faible pH pour former un ion ammonium quaternaire et perdre ainsi leur volatilité, Hartmann *et al.*, (2002) ont montré que ces composés avaient une meilleure réponse quantitative dans une gamme de pH proche de celle du vin, comprise entre pH 3 et pH 4. La décroissance d'intensité n'apparaît qu'en dessous de pH 2, observation partagée par Ryan *et al.* (2005). Cela s'explique probablement par la faible constante de dissociation acide (pKa) de l'IBMP et de l'IPMP (0,98 et 0,88 respectivement). Lorsque pH = pKa+1, la majorité de l'acide est dissociée et la méthoxypyrazines est présente sous sa forme déprotonée et volatile. Kotseridis *et al.* (2008) observent cependant un léger effet positif d'une augmentation de pH 4 à pH 6.

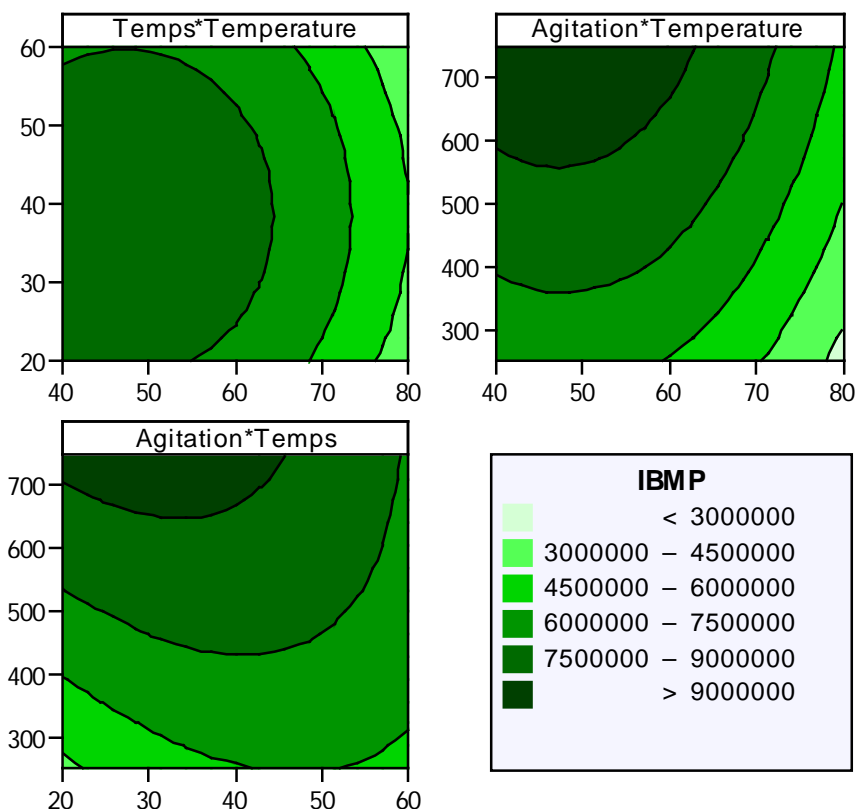
Considérant la dilution dans l'eau qui élève le pH (malgré l'effet tampon du vin), nous nous situons dans une gamme de pH optimum, et n'avons donc pas cherché à optimiser ce paramètre en particulier.

### 2.1.3. Temps et température d'incubation, vitesse d'agitation

Les trois méthoxypyrazines (IBMP, IPMP, sBMP) réagissent de manière très similaire vis-à-vis des paramètres testés par le plan de Box-Behnken. Aussi, nous nous sommes basés sur la seule réponse de l'IBMP, correspondant à l'aire du pic chromatographique de l'ion principal ( $m/z$  124).



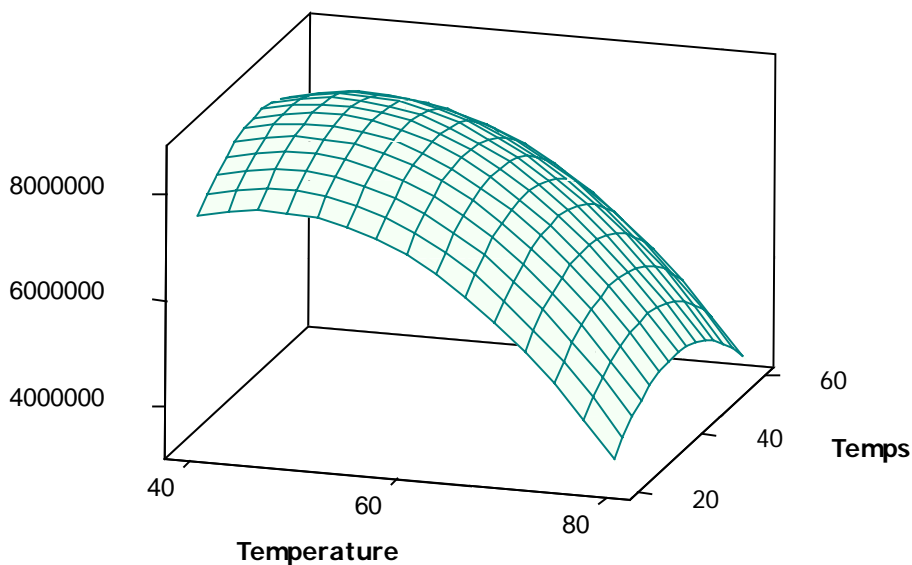
Les graphiques de réponse obtenus en mesurant la variation de l'aire des pics chromatographiques de l'ion principal de l'IBMP ( $m/z$  124) valident la pertinence des optimisations de temps, température et vitesse d'agitation puisque des modifications significatives de la réponse (d'un facteur 1 à 3) sont observés (**Figure 21** ; **Figure 22**).



**Figure 21. Graphique des contours de l'IBMP (ordonnée\*abscisse).** Valeurs de maintien : 50 °C, 40 min, 500 tr/min. L'intensité des couleurs est proportionnelle à la réponse mesurée soit l'aire du pic chromatographique principal de l'IBMP ( $m/z$  124).

L'augmentation de la vitesse d'agitation augmente, de manière quasi linéaire, l'intensité de la réponse. De fait, la vitesse maximale du passeur de **750 tours/min** a été choisie.

Inversement, l'augmentation de température produit un effet limité entre 40 et 60 °C et à partir de 60 °C, la détection est moindre. Ceci laisse supposer l'existence de phénomène de dégradation thermique. De même, une durée d'incubation prolongée (au-delà de 60 minutes) apparaît comme négative, une durée optimale étant située autour de 40 minutes (**Figure 21** ; **Figure 22**).

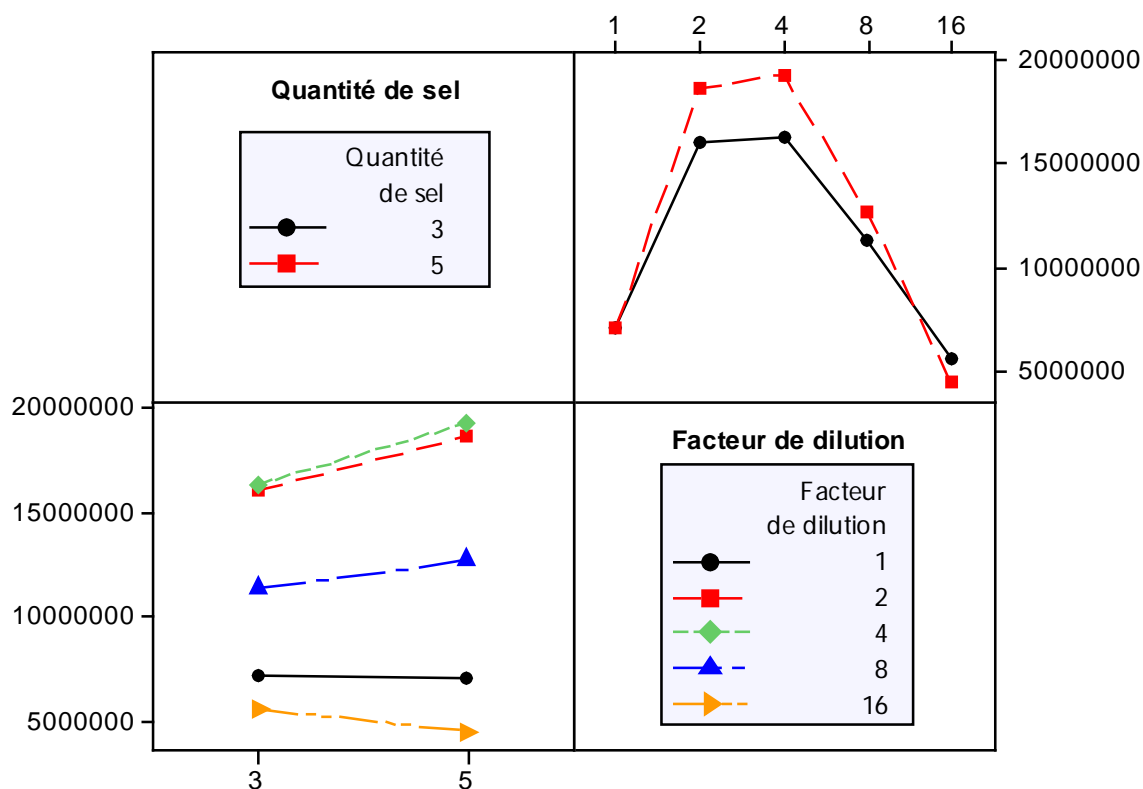


**Figure 22.** Diagramme de surface (Temps ; Température) de l'IBMP. Valeur de maintien : 500 tours/min. Les valeurs en ordonnées correspondent à l'aire du pic chromatographique principal de l'IBMP ( $m/z$  124).

Considérant les résultats de modélisation de la réponse, les critères suivants ont ainsi été retenus : **température d'incubation de 50 °C, durée de 40 minutes**. Ces paramètres se situent finalement dans une plage cohérente avec ceux décrits dans la littérature (Hjelmeland *et al.*, 2012 ; Kotseridis *et al.*, 2008 ; Botezatu *et al.*, 2014 ; Schmarr *et al.*, 2010).

#### 2.1.4. Dilution et quantité de sel ajoutée

Le graphique des interactions entre la quantité de sel et le facteur de dilution, obtenu en mesurant la variation de l'aire du pic chromatographique de l'ion principal de l'IBMP ( $m/z$  124), montre des variations importantes (de l'ordre de 1 pour 4) (**Figure 23**).



**Figure 23. Matrice des interactions (Quantité de sel ; Facteur de dilution) de l'IBMP obtenue par un plan factoriel complet.** La quantité de sel est exprimée en g. Les valeurs en ordonnées correspondent à l'aire du pic chromatographique principal de l'IBMP ( $m/z$  124).

Paradoxalement, la dilution de l'échantillon de vin n'engendre pas directement une perte d'intensité de la réponse, mais conduit d'abord un optimum entre les niveaux de dilution  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$ . Cette observation résulte en fait d'un double phénomène : l'augmentation de la volatilité des composés par la réduction de la teneur en éthanol du milieu ; la diminution des phénomènes de compétition entre les composés et l'éthanol sur la fibre SPME. Toutefois, passé un certain seuil de dilution, la perte en quantité de matière prédomine et engendre une diminution quasi linéaire de l'intensité de réponse.

La quantité de sel utilisée pour favoriser l'effet « salting out », c'est-à-dire le transfert des composés dans l'espace de tête, peut aussi avoir un effet significatif. L'utilisation du plan d'expérience fait apparaître une interaction entre le facteur de dilution de l'échantillon et la quantité de sel ajoutée. L'effet d'un ajout de 5 g de NaCl par rapport à un ajout classique de 3 g n'est significatif qu'à partir d'une dilution au  $\frac{1}{2}$ . Aucun effet n'est mesuré sur le vin non dilué.

Les effets mesurés sur les autres méthoxypyrazines étant globalement similaires, nous avons choisi de considérer les optimums obtenus pour l'IBMP.

Ainsi, un niveau de **dilution au  $\frac{1}{2}$**  et une quantité de **5 g de NaCl** à ajouter ont été choisis. Ce dernier peut cependant être substitué par du sulfate d'ammonium dont les tests réalisés ont montré une efficacité similaire (résultats non communiqués).

## 2.2. Optimisation des paramètres de spectrométrie de masse

L'évaluation des paramètres de température de l'injecteur et de la ligne de transfert, de modalité d'injection (pression pulsée, injection de type PTV, durée de split) a révélé qu'ils ne semblaient pas en mesure d'impacter positivement sur la réponse quantitative des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines (résultats non communiqués). Par conséquent, les efforts se sont polarisés sur l'optimisation de la spectrométrie de masse à triple quadripôle utilisée (MS/MS). Cette technologie de masse en tandem présente l'avantage d'une double sélectivité lorsqu'elle est utilisée en mode SRM ou MRM. Elle nécessite toutefois de nombreuses optimisations.

### 2.2.1. Approches préliminaires

Afin de sélectionner et optimiser les transitions d'intérêt, et particulièrement la transition sur laquelle a reposé la quantification de chacune des méthoxypyrazines, trois modes d'utilisation du spectromètre de masse ont successivement été utilisés.

Le premier est le mode classique pour lequel la cellule de collision n'est pas alimentée en gaz et le second quadripôle d'analyse (Q3) désactivé. L'analyseur opère alors comme un simple quadripôle. Cette première phase a assuré le repérage du temps de rétention des composés et, par l'utilisation du quadripôle en mode scan (gamme de balayage comprise entre  $m/z$  40 et 400), les ions majoritaires, ou **ions parents**.

Le second mode utilisé était le mode descendant, sélectionnant les ions parents majoritaires pour les fragmenter dans la cellule de collision sous une tension fixe de 10 V. Le second quadripôle fonctionnait en mode scan ( $m/z$  40 et 200) afin d'analyser les **ions fils** obtenus pour chacun des ions parents. Les ions fils majoritaires ont ainsi pu être sélectionnés (**Tableau 19**).

**Tableau 19. Ions fils majoritaires après fragmentation dans la cellule de collision (tension fixe de 10 V) des principaux ions parents de l'IBMP, de l'IPMP, de la sBMP et de l'étalon interne [<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]-IBMP.**

| Composé                  | IBMP  |     | IPMP  |     |     | sBMP  |     | [ <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ]-IBMP |     |
|--------------------------|-------|-----|-------|-----|-----|-------|-----|--------------------------------------|-----|
| Temps de rétention (min) | 32,62 |     | 29,75 |     |     | 32,40 |     | 32,58                                |     |
| Ions parents (m/z)       | 124   | 151 | 137   | 152 | 124 | 123   | 151 | 127                                  | 154 |
| Ions fils (m/z)          | 95    | 123 | 109   | 137 | 94  | 119   | 123 | 97                                   | 126 |
|                          | 94    |     | 105   |     |     | 107   |     | 95                                   | 119 |
|                          | 81    |     | 101   |     |     | 81    |     | 83                                   | 98  |

Le troisième mode utilisé était le mode SRM dans lequel chacun des quadripôles cible un ion spécifique : ion parent pour le premier (Q1), ion fil pour le second (Q3). Pour chaque méthoxypyrazine, le spectromètre analyse donc une transition assurant la double spécificité souhaitée.

L'optimisation des *paramètres de spectrométrie de masse* a été réalisée par injection liquide d'un extrait dichlorométhane de méthoxypyrazines. Elles se sont portées principalement sur l'énergie de collision (V) et sur la pression du gaz de collision (mTorr), ainsi que sur la largeur (m/z) et le temps de scan (s) de chacune des transitions. Ces paramètres ont été testés sur plusieurs transitions pour chacun des ions parents majoritaires.

### 2.2.2. Énergie de collision et pression du gaz de collision

Pour chacune des transitions sélectionnées, l'optimum dans l'énergie de collision a été recherché en testant quatre niveaux de voltage : 5 V, 10 V, 15 V et 20 V. Le niveau de **10 V** est celui qui a procuré, pour la majorité des transitions, les meilleures intensités de réponse ; dans le cas de l'IBMP, il correspond même à la tension optimale de chacune des transitions sélectionnées (**Figure 24**).

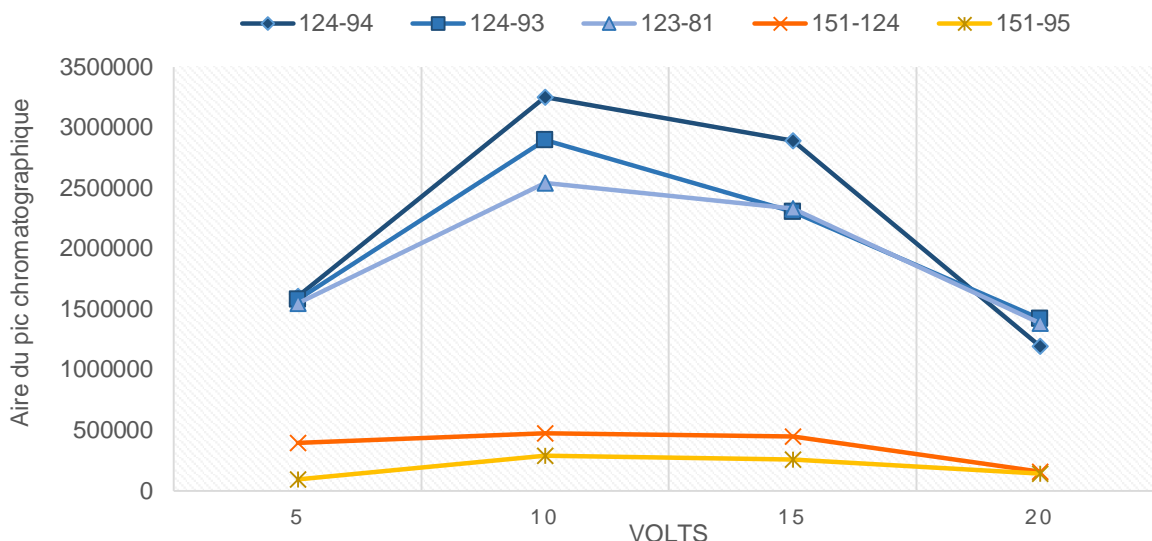


Figure 24. Intensité des pics chromatographiques (aire du pic) des principales transitions de l'IBMP obtenue par l'application de quatre niveaux de tension dans la cellule de collision (volts).

De la même manière, nous avons fait varier la pression de gaz de collision selon 3 niveaux (0,5 ; 1 ; 2 mTorr). La pression standard de **1 mTorr** est celle qui procurait la meilleure réponse.

### 2.2.3. Optimisation des autres paramètres

D'autres paramètres d'importance, tel que le temps de scan (s) ont aussi été optimisés. En effet, il est admis que pour assurer une quantification fiable, un pic chromatographique doit être défini par un nombre de dix points de données minimum (Fillatre, 2011). Par définition, un point correspond à un cycle complet de SRM, lui-même comprenant le *temps de scan* d'une transition, le *temps de pause* pour passer à la transition suivante, et cela, multiplier par le *nombre de transitions* du segment. Cela signifie que plus un segment de SRM contient de transitions à enregistrer, et plus le temps de scan de chacune doit être réduit afin d'assurer un nombre de mesures suffisantes par pics. Toutefois, la valeur de ce paramètre dépend d'un compromis puisqu'une réduction du temps de scan (dans les limites de l'appareil) signifie que l'analyseur consacre un temps plus court à l'acquisition d'une transition, ce qui engendre une altération de la qualité du signal. Fillatre et al (2011) montre très clairement que la variation du rapport signal sur bruit (S/N) est proportionnelle au temps passé sur une transition. Pour la plupart des transitions, selon nos segments de SRM, nous avons observé un optimum autour de la valeur de **0,05 s**.

Aussi, en nous appuyant sur des tests similaires, nous avons positionné la largeur de scan à  $m/z$  0,1 et l'énergie d'ionisation dans la source à 30 eV avec une configuration particulière quant à la tension appliquée aux lentilles de focalisation.

## 2.3. Validation de la méthode de quantification

### 2.3.1. Paramètres de performance

Plusieurs paramètres de validation de la méthode ont été déterminés dans un vin rouge de Bordeaux. Les valeurs estimées de ces différents paramètres sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 20. Récapitulatif des paramètres de validation de la méthode de quantification (linéarité, répétabilité, recouvrement, limite de détection et quantification) déterminés pour l'IBMP, l'IPMP et la sBMP.**

|   | IBMP  | IPMP  | sBMP  |
|---|---|-------|-------|
| <i>Linéarité (<math>R^2</math>), <math>n=3</math></i> |   |       |       |
|   | 0,996   | 0,993 | 0,998 |
| Concentration (ng/L)                                  | <i>Répétabilité (% RSD), <math>n=6</math></i> |       |       |
| 5   | 21,4  | 50,9  | 51,4  |
| 10  | 11,0  | 24,4  | 19,1  |
| 25  | 6,4   | 5,6   | 5,5   |
| Concentration (ng/L)                                  | <i>Recouvrement (% RSD), <math>n=3</math></i> |       |       |
| 5   | 98,2  | 60,5  | 99,8  |
| 10  | 98,0  | 83,2  | 107,0 |
| 25  | 84,8  | 80,1  | 97,0  |
| <i>Limite de détection (ng/L), S/N 3</i>              |   |       |       |
|   | 2,1   | 1,1   | 0,4   |
| <i>Limite de quantification (ng/L), S/N 10</i>        |   |       |       |
|   | 6,5   | 3,7   | 1,2   |

La *linéarité* de la méthode, estimée de 1 à 100 ng/L, présente des coefficients de corrélation supérieurs à 0,99 pour les trois méthoxypyrazines.

Cette valeur traduit la capacité de la méthode à fournir des résultats de mesure directement proportionnels à la concentration en méthoxypyrazines dans le domaine de mesure. La **répétabilité** intègre la notion de fidélité de la méthode qui est, selon l'ISO 3534-1, l'étroitesse de l'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées. Dans certain cas, cette notion de justesse peut être complétée par la *fidélité intermédiaire* qui exprime les variations dans un même laboratoire, mais sur des jours différents, avec des utilisateurs différents voire un équipement différent ou la *reproductibilité* qui exprime la fidélité inter laboratoire. Pour chacune des méthoxypyrazines, on constate une augmentation régulière de l'écart-type relatif à la moyenne ( $n=10$ ) avec la diminution de concentration. Si les valeurs de répétabilités restent acceptables pour l'IBMP (de 6,4 à 21,4 %), elles peuvent être, en revanche, importantes pour l'IPMP et la sBMP (proche de 50 % pour la valeur de 5 ng/L). Cela s'explique probablement par le fait que les niveaux de concentration se situent dans un même ordre de grandeur que les limites de détection, à l'origine des variations entre les mesures. Le **recouvrement** rejoint la notion d'exactitude ou de justesse qui constitue l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée (ISO 3534-1). La plage de recouvrement couramment admise pour ce type d'analyses se situe autour de 80-120 %. L'IBMP et la sBMP ont de bonnes valeurs de recouvrement incluses dans cette plage pour les différentes concentrations additionnées (5, 10 et 25 µg/L). Toutefois, les faibles niveaux de recouvrement de l'IPMP laissent supposer que la méthode d'analyse tend à sous-estimer sa concentration réelle dans l'échantillon. Enfin, les **limites de détection** ( $signal/bruit = 3$ ) et les **limites de quantification** ( $signal/bruit = 10$ ) sont relativement satisfaisantes puisqu'elles se situent autour du seuil de perception théorique des molécules dans le vin (**Etude bibliographique, § 1.3.1**) ; limitant ainsi les zones d'ombres en matière de compréhension olfactive ; c'est-à-dire la différence entre la limite de détection de l'appareil et le seuil de détection olfactive de la molécule.

### 2.3.2. Estimation du niveau d'incertitude de la méthode

L'incertitude de mesure se définit comme le « *paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande* » (GUM ). L'incertitude globale regroupe en fait toutes les sources d'erreurs qui sont liées à la procédure d'analyse.



Plusieurs approches permettent l'estimation de l'incertitude globale d'une analyse. Le **bottom-up** est la méthode de détermination adoptée par l'organisation internationale de normalisation (ISO) et proposée par le guide EURACHEM/CITAC (Ellison *et al.*, 1995). Cette méthode est basée sur l'identification et l'estimation de paramètres suspectés de contribuer majoritairement à l'incertitude globale, celle-ci étant alors la combinaison de ces différents paramètres. Initialement, cette méthode a été développée et appliquée pour le domaine de la physique, mais est de plus en plus appliquée pour les méthodes de chimie analytique (Konieczka & Namiesnik, 2010). Cette méthode est assez complexe et difficile à mettre en œuvre. Mais, bien qu'elle tend à surestimer l'incertitude, elle possède l'avantage de pouvoir identifier les sources les plus importantes d'incertitude. À l'inverse, par exemple, de la méthode **top-down** basée sur les données qui peuvent être obtenues entre plusieurs laboratoires. Une autre méthode plus simple que le bottom-up est la méthode dite de « fitness-for-purpose » qui repose sur une représentation algébrique de l'écart type relatif (% RSD) en fonction de la concentration établie empiriquement sur la base des résultats d'un très grand nombre de laboratoires (Horwitz ; 1980, 1982, 2003) regroupé par l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Cette méthode reste cependant peu fiable en dessous de 1 µg/L et Thompson (2000) propose ainsi des modifications qui donnent lieu à une méthode dite de « **top-down modifié** ». Une étude comparative de l'approche **bottom-up** et **top-down modifié** pour la quantification de pesticides par SPME (Ratola *et al.* , 2006) a montré l'efficacité de la méthode bottom-up pour l'estimation du poids des différentes incertitudes. De même, l'incertitude estimée par le bottom-up varie en fonction des niveaux de concentration, ce qui apparaît plus cohérent que l'incertitude constante que fournit le top-down modifié.

Malgré sa complexité, l'incertitude globale de la méthode de quantification des méthoxypyrazines (IBMP, IPMP, sBMP) a été estimée par la méthode du bottom-up selon plusieurs points : *calibration* ( $U_2$ ), *répétabilité* ( $U_3$ ), *justesse* ( $U_4$ ) auxquelles s'ajoute l'incertitude due au *prélèvement de l'échantillon* ( $U_1$ )

#### 2.3.2.1. L'incertitude associée à la préparation des standards ( $U_1$ )

L'incertitude due à la préparation des standards ( $U_{\text{échantillon}}$  ou  $U_1$ ) correspond à la somme des incertitudes des étapes qui permettent de préparer l'échantillon analysé. Elle est donnée par la formule suivante :

$$U_1 = \sqrt{\sum \left( \frac{\Delta m_i}{m_i} \right)^2}$$

$\Delta m_i$  : erreur associée à la mesure d'un paramètre  
 $m_i$  : valeur mesurée du paramètre

Le premier point d'incertitude est la préparation de la solution de standard ou  $U_{standard}$ . Deux ou trois gouttes de méthoxypyrazine (IBMP, IPMP, sBMP) commerciales, correspondant à une quantité de 0,02 g environ, sont déposées dans une fiole de 25 mL possédant une incertitude de 0,04 mL et pesées avec une balance de précision dont l'incertitude est de 0,0001 g. L'incertitude liée à cette étape de préparation correspond donc à la somme de l'incertitude de pesée et de la fiole :

$$U_{standard} = \left( \frac{0,0001}{0,02} \right)^2 + \left( \frac{0,04}{25} \right)^2 = 2,76 \cdot 10^{-5}$$

Cette solution mère obtenue (1 g/L environ) est diluée afin d'être conservée à une concentration de 1 mg/L. Ainsi, 25  $\mu$ L sont prélevés par une micropipette dont l'erreur a été estimée à 0,3  $\mu$ L par une balance de précision, selon 10 répétitions et en considérant les erreurs de justesse et de fidélité. Ils sont aussi introduits dans une fiole de 25 mL du même type que celle ayant servi à préparer la solution mère. L'incertitude liée est cette dilution est donc la suivante :

$$U_{dilution} = \left( \frac{0,3}{25} \right)^2 + \left( \frac{0,04}{25} \right)^2 = 1,47 \cdot 10^{-4}$$

Bien souvent, les indications de pureté des fournisseurs commerciaux restent floues. Dans les cas des méthoxypyrazines, elles par exemple mentionnées ainsi :  $\leq 99$  %. Dans ce cas, il semble raisonnable de considérer un intervalle de pureté compris entre la valeur minimale et 100 % (Meyer *et al.*, 2007), ce qui correspond donc à 1 %. Considérant une distribution de type rectangulaire, l'intervalle de pureté à une largeur  $2a$  de 1 %, ce qui donne une incertitude  $U_{pureté}$  de  $0,6a = 0,5 \times 0,5 \% = 3 \cdot 10^{-3}$ .

Enfin, l'incertitude due au prélèvement de 5 mL d'échantillon pour l'analyse et de 10 µL d'étalon interne est la suivante :

$$U_{\text{pipetage}} = \left(\frac{0,06}{5}\right)^2 + \left(\frac{0,1}{10}\right)^2 = 2,44 \cdot 10^{-4}$$

$$\text{Ainsi, } U_1 = \sqrt{U_{\text{standard}} + U_{\text{dilution}} + U_{\text{pipetage}}} = 0,08$$

Cette valeur  $U_1$  est fixe et ne dépend pas de la concentration en méthoxypyrazines des échantillons analysés. En revanche, elle tend à augmenter lorsque les volumes de prélèvement diminuent.

### 2.3.2.2. L'incertitude associée à la courbe de calibration ( $U_2$ )

L'incertitude de la courbe de calibration ( $U_2$ ) est donnée par la formule suivante :

$$U_2 = \frac{\sigma_{x_0}}{x_0}$$

$$\text{Avec : } \sigma_{x_0} = \frac{\sigma_{y/x}}{b} \sqrt{\left\{ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2} \right\}} \quad \text{et} \quad \sigma_{y/x} = \sqrt{\sum \frac{(y_i - y_{\text{icalc}})^2}{n-2}}$$

$\sigma_{x_0}$  : écart type de la concentration calculée à partir de la courbe de calibration

$x_0$  : concentration calculée à partir de la courbe de calibration

$b$  : pente de la courbe de calibration ( $R^2$ )

$m$  : nombre de réplicat pour chaque valeur de  $x$

$n$  : nombre de point de la courbe de calibration

$y_0$  : valeur expérimentale de  $y$  calculée à partir de la courbe de calibration

$\bar{y}$  : moyenne des valeurs de  $y_i$

$x_i$  : valeur de  $x$  utilisée pour construire la courbe de calibration

$\bar{x}$  : moyenne des valeurs de  $x_i$

$y_i$  : valeurs expérimentales

$y_{\text{ical}}$  : valeurs calculées par la courbe de calibration

Les valeurs d'incertitudes obtenues pour les différentes méthoxypyrazines (IBMP, IPMP, sBMP) aux trois niveaux de concentration mesurés montrent une augmentation inverse par rapport à la concentration (**Tableau 21**).

En toute logique, cette incertitude augmente dès lors que la concentration mesurée se rapproche de la limite de détection de l'appareil.

**Tableau 21.** Incertitudes  $U_2$  liées à la courbe de calibration (%) à 25, 10 et 5 ng/L d'IBMP, IPMP et sBMP.

| $U_2$ | 25   | 10   | 5    |
|-------|------|------|------|
| IBMP  | 0,04 | 0,11 | 0,19 |
| IPMP  | 0,15 | 0,37 | 0,98 |
| sBMP  | 0,04 | 0,14 | 0,43 |

De même, si les niveaux d'incertitudes sont relativement satisfaisants pour l'IBMP aux trois concentrations mesurées, il n'en est pas de même pour l'IPMP dont l'incertitude est proche de 100 % pour la concentration la plus basse de 5 ng/L.

### 2.3.2.3. L'incertitude associée à la précision de la mesure ( $U_3$ ) et à l'exactitude ( $U_4$ )

Le calcul de l'incertitude de la précision ( $U_3$ ) renvoie directement à la répétabilité de l'analyse et a été calculé par la formule suivante :

$$U_3 = \frac{\left(\frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right)}{x_0}$$

$\sigma$  : écart type de la mesure  
 $n$  : nombre d'essais  
 $x_0$  : concentration mesurée

De même, l'incertitude liée à l'exactitude ( $U_4$ ) est reliée aux valeurs de recouvrement et a été calculé selon cette formule :

$$U_4 = \frac{\left(\frac{\sigma_r}{\bar{x}_r}\right)}{\sqrt{n}}$$

$\sigma_r$  : écart type des recouvrements  
 $\bar{x}_r$  : moyenne des recouvrements  
 $n$  : nombre d'essais

Le **tableau 22** montre des valeurs d'incertitudes  $U_3$  et  $U_4$  relativement faibles pour chacune des méthoxypyrazines analysées à trois niveaux de concentration.

L'incertitude liée à la précision de mesure  $U_3$  qui reste très faible dans l'ensemble tend, cependant, à augmenter avec la diminution de la concentration. Comme dans le cas de l'incertitude associée à la courbe de calibration  $U_1$ , cela traduit de manière explicite l'observation empirique selon laquelle la précision de mesure décroît à l'approche de la limite de détection d'une méthode.

En revanche, s'agissant de l'exactitude associée à la notion de recouvrement, elle semble beaucoup moins aux prises avec les niveaux de concentration. L'incertitude de ce paramètre peut même, comme l'IBMP le montre, varier dans le même sens que la concentration.

**Tableau 22. Incertitudes  $U_3$  et  $U_4$  associées à la précision de la mesure et à l'exactitude (%) à 25, 10 et 5 ng/L d'IBMP, IPMP et sBMP.**

|                         | 25   | 10   | 5    |
|-------------------------|------|------|------|
| <b><math>U_3</math></b> |      |      |      |
| IBMP                    | 0,01 | 0,02 | 0,04 |
| IPMP                    | 0,01 | 0,04 | 0,07 |
| sBMP                    | 0,01 | 0,03 | 0,07 |
| <b><math>U_4</math></b> |      |      |      |
| IBMP                    | 0,05 | 0,02 | 0,03 |
| IPMP                    | 0,1  | 0,13 | 0,02 |
| sBMP                    | 0,05 | 0,22 | 0,13 |

Cette notion d'incertitude relative à la limite de détection de la méthode a même poussé certains auteurs à inclure une variable d'incertitude directement en rapport avec celle-ci (Konieczka & Namiesnik ; 2010). Elle part du postulat selon lequel l'incertitude de la mesure est de 100 % lorsque la concentration est égale à la limite de détection. L'expression qui en résulte est donc le rapport de la limite de détection sur la concentration mesurée.

#### 2.3.2.4. L'incertitude globale et élargie

L'**incertitude globale** ( $U_r$ ) résulte de la combinaison des différentes incertitudes ( $U_1$ ,  $U_2$ ,  $U_3$ ,  $U_4$ ) que nous avons établies. Son expression, selon le guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM), est :

$$U_r = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2}$$

Afin d'assurer un niveau de confiance donnée, l'incertitude globale a été multipliée par un facteur d'élargissement ( $k$ ). Pour un niveau de confiance de 95 % et selon une distribution normale, ce facteur est de 2 (1,96 très exactement). Cela donne lieu à l'**incertitude élargie** ( $U$ ).

Chaque résultat de la mesure est ensuite exprimé avec l'incertitude élargie qui lui est associée de cette manière :  $M \pm U$  ng/L.

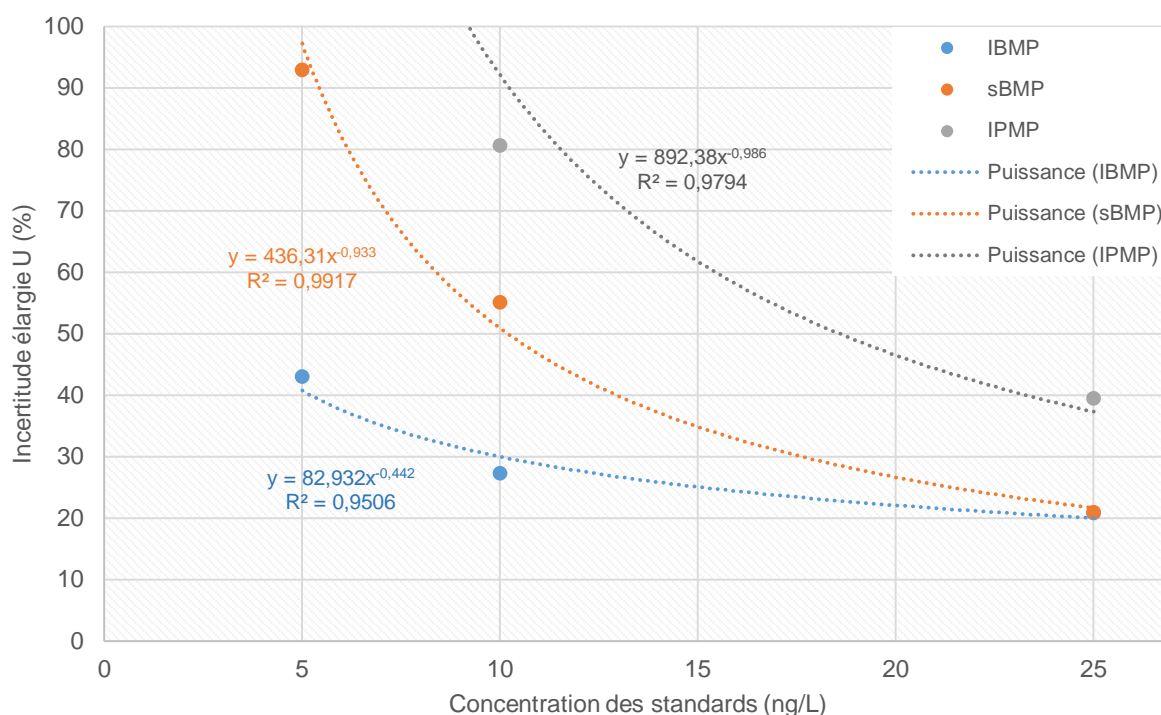
**Tableau 23.** Incertitudes globales ( $U_r$ ) et incertitude élargie à 95 % de confiance avec un facteur  $k=2$  ( $U$ ) de l'IBMP, de l'IPMP et de la sBMP à 25, 10 et 5 ng/L.

|  | 25   | 10   | 5     |
|--|------|------|-------|
| <b><math>U_r</math> (%)</b>                |      |      |       |
| IBMP                                       | 10,4 | 13,7 | 21,5  |
| IPMP                                       | 19,7 | 40,3 | 98,4  |
| sBMP                                       | 10,5 | 27,5 | 46,4  |
| <b><math>U</math> (%) <math>k=2</math></b> |      |      |       |
| IBMP                                       | 20,8 | 27,3 | 43,0  |
| IPMP                                       | 39,5 | 80,6 | > 100 |
| sBMP                                       | 20,9 | 55,1 | 92,9  |

L'estimation des incertitudes globales et élargies (**Tableau 23**) confirme les observations précédentes, à savoir que celles-ci augmentent lorsque la concentration se rapproche de la limite de détection de la méthode. L'analyse de ces tendances sur les trois méthoxypyrazines (**Figure 25**) montre qu'elles ont une bonne correspondance avec une courbe de puissance.

Toutefois, pour obtenir la tendance réelle de ce phénomène, il serait nécessaire d'augmenter le nombre de points et la largeur de la plage d'étude. Ratola *et al.* (2006) et Brás *et al.* (2011) montrent que cette variation de l'incertitude décroît en fait de manière exponentielle à partir de la limite de détection pour se stabiliser à une valeur constante à partir d'une certaine concentration. Selon leurs propres observations, cette valeur se situe autour de 20 % sur une méthode de quantification optimisée des pesticides par SPME/GC-ECD.

Ces valeurs sont en accord avec nos estimations à 25 ng/L pour l'IBMP et la sBMP, il est donc possible que l'incertitude se stabilise autour de ce niveau de 20 %, peut être légèrement en dessous, pour ces deux méthoxypyrazines à partir de 25 ng/L. En revanche, il apparaît que l'incertitude plus grande sur le dosage de l'IPMP tend à se stabiliser vers une valeur proche de 30 % à partir de concentrations plus élevées.



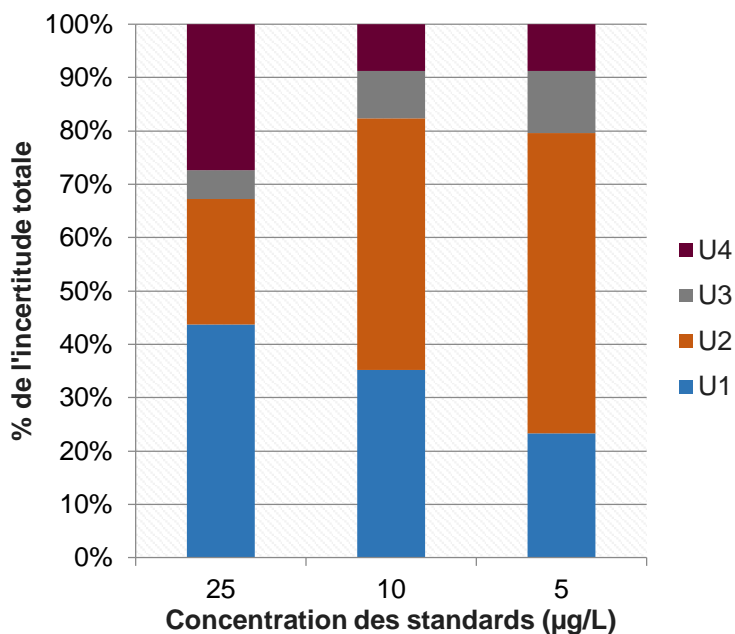
**Figure 25. Variation de l'incertitude élargie (%) de l'IBMP, de l'IPMP et de la sBMP en fonction des concentrations de standards.** Les courbes en pointillés représentent les courbes de tendance selon une fonction puissance.

Les valeurs élevées d'incertitudes de la sBMP et de l'IPMP à 5 ng/L n'ont, pour autant, rien de surprenant puisqu'elles peuvent largement dépasser 100 % lorsque les niveaux de concentration sont proches de la limite de détection.

C'est par exemple le cas de l'analyse des chlorophénols dans l'eau dont l'incertitude atteint 186,7 % pour la valeur la plus basse de la méthode (0,5 µg/L) (Silva *et al.*, 2009). Il s'agit toutefois de les prendre en considération dans l'interprétation des résultats.

En revanche, le dosage de l'IBMP conduit à une détermination quantitative avec une incertitude très satisfaisante, même à un niveau de concentration de 5 ng/L (43 %). Ce composé apparaît également moins soumis aux variations de concentrations que l'IPMP ou la sBMP. Il est possible que cette capacité à conserver une incertitude relativement basse, même dans des concentrations proches de sa limite de détection, résulte directement de notre démarche d'optimisation fixant les paramètres optimums sur cette molécule.

Si l'on fait usage de l'avantage procuré par la méthode du bottom-up en analysant la contribution de chacune des incertitudes sur l'incertitude globale, on observe que l'incertitude liée à la courbe de calibration ( $U_2$ ) est déterminante pour les faibles niveaux de concentration (**Figure 26**). En effet, pour l'IBMP, elle est responsable de plus de 50 % de l'incertitude globale à 5 ng/L. Cette contribution majeure de l'incertitude liée à la courbe de calibration ( $U_2$ ) à l'incertitude globale des analyses est partagée par d'autres auteurs (Ralola *et al.*, 2006 ; Brás *et al.*, 2011 ; Silva *et al.*, 2009). Elle apparaît donc comme le point critique de l'analyse à faibles concentrations contribuant à l'accroissement de l'incertitude de mesure.



**Figure 26.** Contribution de chacune des sources à l'incertitude globale (%) de l'IBMP à 25, 10 et 5 ng/L. Incertitude associée à la préparation des standards ( $U_1$ ), à la courbe de calibration ( $U_2$ ), à la précision de la mesure ( $U_3$ ) et à l'exactitude ( $U_4$ ).



### **3. CONCLUSION**

Dans ce chapitre le développement d'une méthode de quantification par SPME-CPG-MS/MS adaptée à la problématique du dosage de trois méthoxypyrazines (IBMP, IPMP, sBMP), présentes à l'état de traces dans le vin.

D'une part, l'optimisation des paramètres de SPME a montré le rôle de certains facteurs dans la réponse quantitative des méthoxypyrazines ; mais aussi l'efficacité des plans d'expériences dans la recherche des optimums, tout en considérant les interactions possibles entre les facteurs.

D'autre part, la double spécificité de l'analyse par la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS à triple quadripôle) a prouvé son efficacité dans l'augmentation du rapport signal/bruit pour les principales méthoxypyrazines du vin. Nous montrons ainsi que cette technique constitue un outil efficace de quantification permettant de s'affranchir d'une matrice complexe en se soustrayant aux nombreuses coélutions qui entravent habituellement l'analyse de ces composés.

De plus, la validation de la méthode a été menée suivant une procédure d'estimation de l'incertitude de type bottom-up selon le guide EURACHEM/CITAC. Ainsi, son aptitude à fournir des informations quantitatives fiables pour l'IBMP, jusqu'à une limite de quantification de 6,5 ng/L, est attestée. En revanche, l'incertitude est moins satisfaisante pour l'IPMP et la sBMP. La méthode permet toutefois, par sa faible limite de détection et sa double spécificité, de valider ou d'infirmer la présence de ces deux molécules dans le vin à des concentrations très faibles, autour de leur seuil de perception théorique. En ce sens, elle répond à notre problématique initiale. Aussi, cela rappelle l'importance de mettre en œuvre une telle démarche de validation, et particulièrement dans le cas de dosages difficiles. Ces valeurs d'incertitudes estimées sont autant de précieuses informations quant à l'interprétation des résultats de quantification qui ont été obtenus dans les chapitres suivants.

# **Chapitre 3. Premières approches dans la recherche de marqueurs des nuances aromatiques végétales : relation avec des marqueurs moléculaires connus**

## **1. INTRODUCTION**

Au cours du **chapitre 1**, les descripteurs « poivron vert » et « herbe coupée » se sont confirmés comme deux descripteurs majeurs de la famille aromatique du végétal.

Il est couramment admis que ces odeurs, dans les vins, sont respectivement attribuées aux méthoxypyrazines et aux alcools en C6 (**Etude bibliographique, § 1.3.2**). Or, plusieurs études récentes ont montré que la corrélation directe entre la teneur en méthoxypyrazines des vins et leurs nuances herbacées (Scheiner *et al.*, 2011) ou de poivron vert (Preston *et al.*, 2008) ne pouvait pas être établie.

Du fait de leurs propriétés odorantes en accord avec les tonalités exprimées, il est donc apparu important de préciser l'implication de ces molécules dans ces nuances végétales caractéristiques. Ainsi, ce chapitre avait pour objectif de considérer, en joignant des approches sensorielles et analytiques sur un large échantillonnage de vin, le lien possible entre le niveau d'abondance de ces molécules dans les vins rouges et l'expression de leurs nuances végétales. Il devait aussi permettre de formuler des hypothèses quant à leur origine ; permettant alors de dégager les axes de recherche des chapitres suivants.

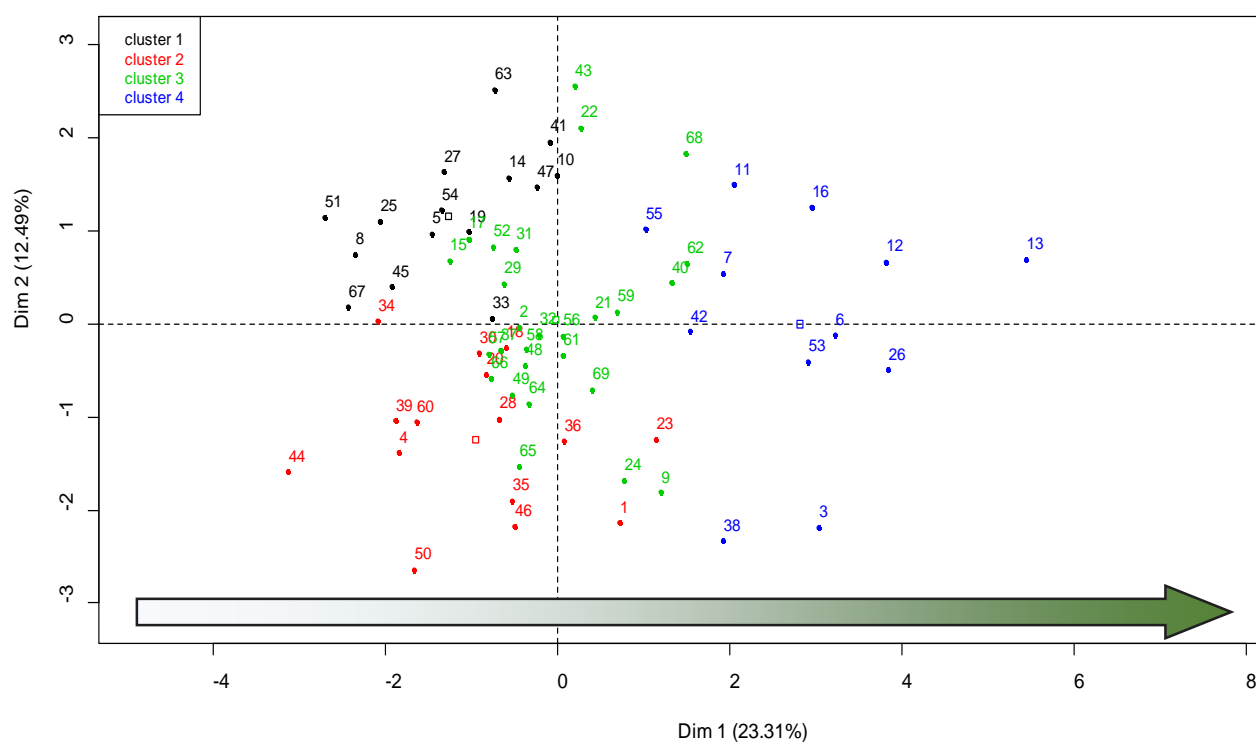
## 2. LA SÉLECTION DES MODÈLES D'ÉTUDES DU DESCRIPTEUR "VEGETAL"

### 2.1. Approche de la caractérisation de la famille aromatique du végétal par un protocole de catégorisation aromatique

La première étape de notre démarche a consisté à établir un gradient de représentativité sur un nombre étendu de vins par rapport au nombre considéré dans le **chapitre 1**. De fait, l'évaluation sensorielle a reposé sur 70 vins susceptibles de présenter des nuances végétales, un nombre significatif par rapport à celui d'études du même type et qui se situe généralement autour d'une vingtaine (Ballester *et al.*, 2005 ; Parr *et al.*, 2007 ; Jaffré *et al.*, 2011 ; Schuttler *et al.*, 2015 ; Picard *et al.*, 2015a). Tous appartenaient à différentes régions françaises, majoritairement du Sud-Ouest et étaient constitués principalement de cépages de la famille des Carmenets : Cabernet Sauvignon, Cabernet franc, Merlot, Carmenère, Petit Verdot et Fer Servadou.

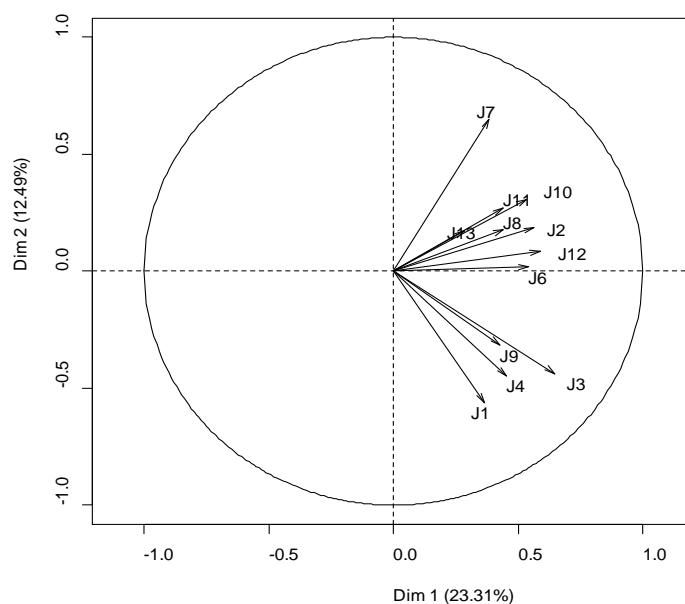
Dans un premier temps, les vins ont fait l'objet d'une évaluation sensorielle par le *panel 2* visant à situer, sur une échelle linéaire, leur degré d'exemplarité à la famille aromatique du végétal. Une Analyse en Composantes Principales (ACP) a été réalisée sur les données sensorielles centrées réduites par juge et converties en une matrice vins x juges.

La carte des vins obtenus (**Figure 27**) montre une bonne répartition de ceux-ci sur l'axe 1 (dim 1). Cet axe représente le degré d'appartenance des vins à la famille aromatique du végétal. Les vins évalués comme les plus végétaux sont donc situés sur la partie droite de la carte ; à l'inverse des vins peu ou pas végétaux situés à gauche. L'axe 2 (dim 2), représente la dispersion de jugement sur chacun des vins. Ainsi, les vins proches de la ligne médiane font l'objet d'un consensus entre les juges. À ce titre, il est possible d'observer que les vins situés aux deux extrémités de l'axe 1 possèdent, majoritairement, un meilleur consensus entre les juges que les vins intermédiaires.



**Figure 27.** Carte des individus (vins) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP) évalués sur leur degré d'exemplarité à la famille aromatique du « végétal ».

Bien qu'elle puisse paraître faible, la variance totale (35,8 %) portée par l'axe 1 (23,31 %) et l'axe 2 (12,49 %) est cohérente avec des études similaires réalisées précédemment, telle celle de Ballester *et al.*, (2005) sur la typicité du Chardonnay (variance totale de l'ordre de 36 %). Par ailleurs, la représentation graphique des variables montre un bon niveau de consensus entre les juges puisque les vecteurs qui les symbolisent ont des orientations similaires (**Figure 28**).



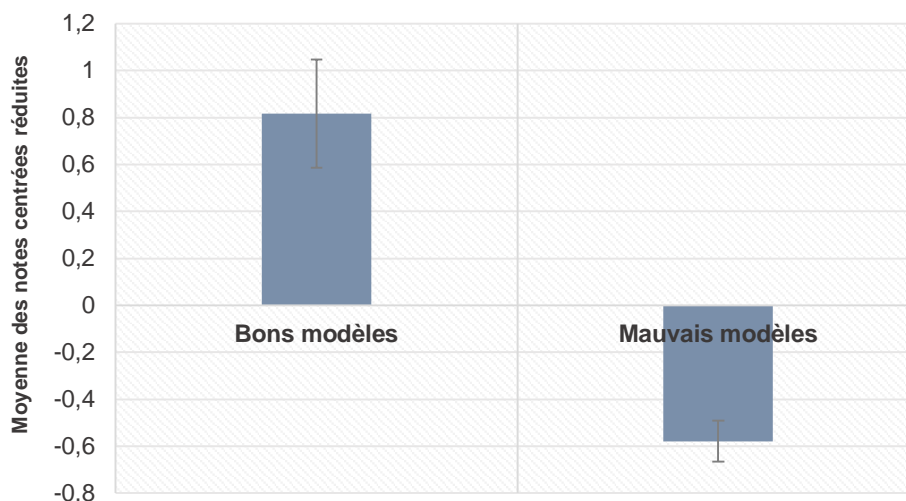
**Figure 28. Représentation graphique des variables (juges) dans l'espace de notation obtenu par l'Analyse en Composantes Principales.**

L'accord entre les juges sur l'évaluation de l'odeur végétale contraste ainsi avec les études de Solomon *et al.* (1990) et Perrin *et al.*, (2008). Il est probable que l'évaluation d'exemplarité se positionne au plus près du phénomène de conceptualisation dans la dégustation, observé précédemment, et dans lequel l'emploi du terme « végétal », faisant référence à la famille aromatique, est préféré aux descripteurs qui la compose (**chapitre 1**). De plus, la sélection des juges sur leur capacité d'évaluation et sur leur connaissance de cette famille aromatique, ainsi que la sensibilisation de ceux-ci aux principales nuances qui la composent par la présentation de standards moléculaires, a probablement, aussi, contribué à accroître ce consensus.

## 2.2. Sélection de vins présentant des profils sensoriels contrastés

Afin de limiter le bruit de fond apporté par les vins intermédiaires, nous avons sélectionné, en nous basant sur une Classification Ascendante Hiérarchique (ACH), les 10 vins les plus représentatifs (bons modèles) et les 10 vins les moins représentatifs (mauvais modèles) de la famille aromatique du végétal.

La **Figure 29** illustre l'importante différence qui existe entre la moyenne des notes d'exemplarité centrées réduites sur ces deux lots de vins. De plus, celle-ci est validée par les p-valeurs à 95 % obtenues par les tests de Kruskal-Wallis ( $1,57.10^{-4}$ ) et de Wilcoxon bivarié ( $1,08.10^{-5}$ ).



**Figure 29.** Moyenne des notes d'exemplarité centrées réduites des bons modèles (n=10) et des mauvais modèles (n=10) associées à la famille aromatique du végétal.

La carte des individus obtenus à l'aide d'une nouvelle Analyse en Composantes Principales (**Figure 30**) réalisée sur les vins sélectionnés confirme l'importance de l'omission des vins intermédiaires. Ainsi, cette représentation montre bien une rupture dans le continuum sensoriel et affirme la césure entre les bons et les mauvais modèles.

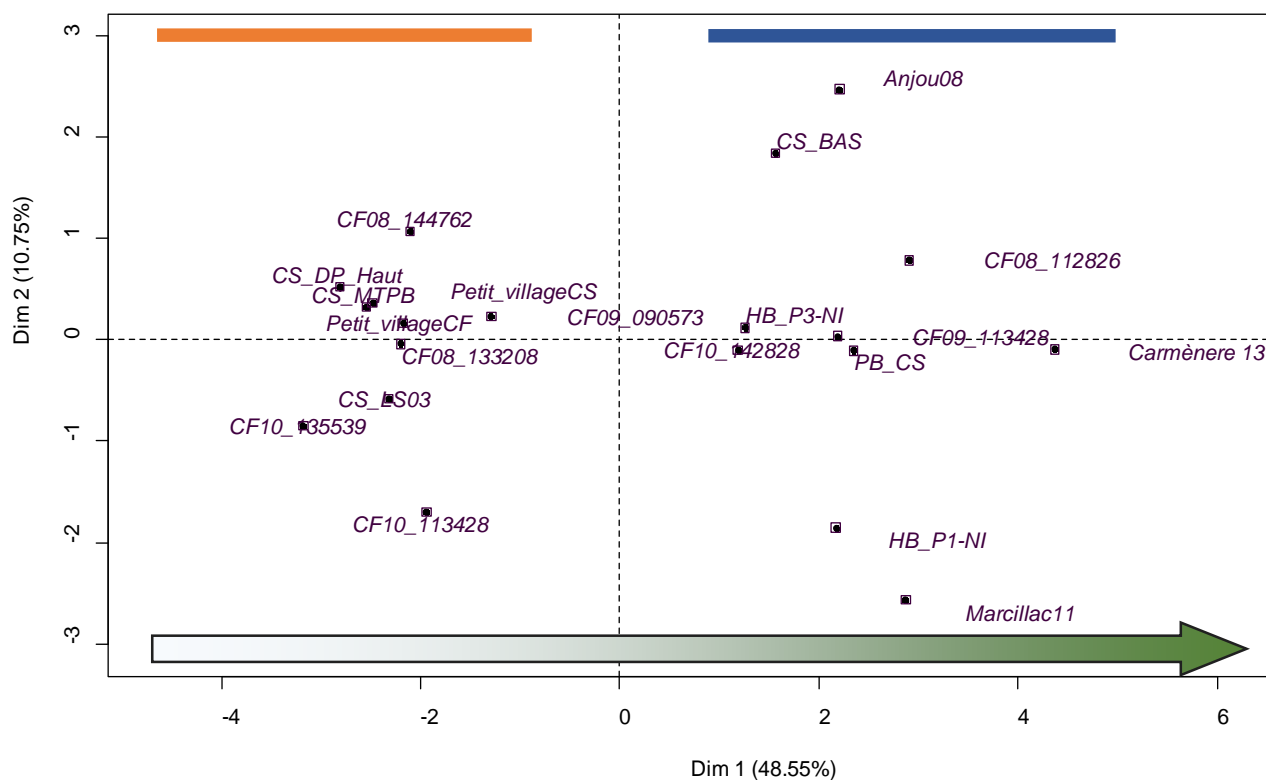


Figure 30. Carte des individus (bons et mauvais modèles) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP) évalués leur degré d'exemplarité à la famille aromatique du « végétal ».

De plus, on observe une variance totale de 59,3 % portée par les deux axes de l'ACP et une bonne concordance entre les juges dans la représentation graphique des variables (Figure 31).

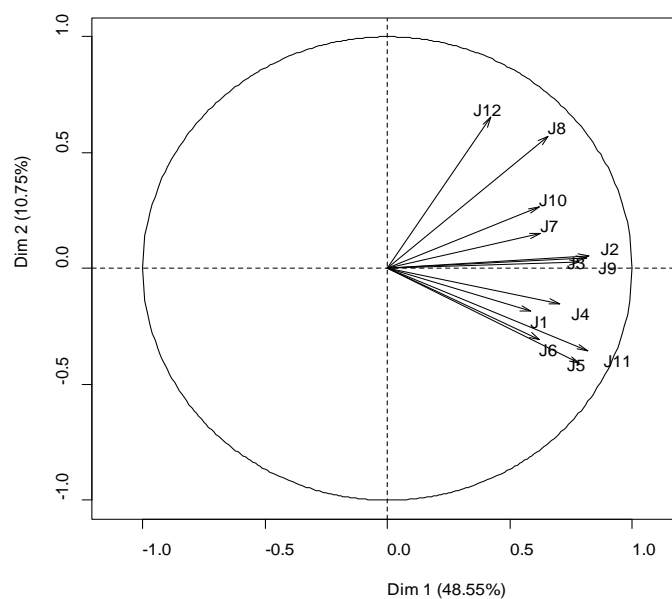


Figure 31. Représentation graphique des variables (juges) dans l'espace de notation obtenu par l'Analyse en Composantes Principales.

Ainsi, l'approche méthodologique en deux temps, ayant pour point de départ un nombre important de vins, a permis, au final, d'aboutir à la sélection d'une vingtaine de vins caractérisés par des différences marquées dans leur niveau de représentativité de la famille aromatique du végétal.

### 3. CONFRONTATION DES DONNÉES D'ANALYSE SENSORIELLE AVEC LE DOSAGE DES ALCOOLS EN C6 ET DES MÉTHOXYPYRAZINES

#### 3.1. Quantification des alcools en C6 et des méthoxypyrazines dans les vins du modèle d'étude

La quantification des alcools en C6 et des méthoxypyrazines dans les vins du modèle d'étude (bons et mauvais exemples) a été réalisée, respectivement, selon les *méthodes 1* et *2* (**Tableau 24**).

L'analyse des concentrations de l'hexanol permet d'observer qu'elles se situent toutes en dessous de son seuil de perception théorique dans l'eau (2500 µg/L). A l'inverse, les teneurs en (Z)-3-hexenol peuvent atteindre 238,1 µg/L et dépassent ainsi son seuil de détection olfactive de l'eau (70 µg/L). En ce qui concerne les méthoxypyrazines, les échantillons analysés contiennent, pour la majorité, des concentrations inférieures à 10 ng/L ; toutefois, quelques échantillons (Anjou08, Carmenère13, CF10\_142828, Marcillac11) dépassent le seuil de détection olfactive de cette molécule dans le vin rouge (15 ng/L). En outre, ce composé n'est pas non plus détecté dans les vins de presse de Merlot (HB\_P1\_NI ; HB\_P3\_NI) dont les teneurs du cépage sont généralement inférieures aux vins de Cabernets (**Etude bibliographique, § 1.3.1**). La détection de l'IPMP et de la sBMP à des niveaux de concentration supérieurs à la limite de détection de la méthode est beaucoup plus ponctuelle. Ces deux molécules sont ainsi mesurées dans quelques vins appartenant à la catégorie des « bons modèles » (Anjou08, Carmenère13, CF10\_142828, Marcillac11, CS\_BAS, PB\_CS) avec, toutefois, des concentrations inférieures à leur seuil de détection olfactive. De plus, l'incertitude de l'analyse sur les plages de concentration retrouvées (**chapitre 2**) doit conduire à une interprétation prudente de ces résultats de mesure.



**Tableau 24. Concentration en alcools en C6 (moyenne  $\pm$  écart type  $\mu\text{g/L}$ ) et en méthoxypyrazines (moyenne  $\pm$  U  $\text{ng/L}$ ) et notes moyennes centrées réduites obtenues (fruité et végétal). Les 10 premiers vins correspondent aux « bons modèles » ; les 10 autres aux « mauvais modèles »**

|             | VEGET. | FRUITÉ | (Z)-2-<br>hexenol | (E)-2-<br>hexenol | (Z)-3-<br>hexenol | (E)-3-<br>hexenol | Hexanol            | IBMP           | sBMP          | IPMP          |
|-------------|--------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|----------------|---------------|---------------|
| Anjou08     | 0,76   | -0,81  | 10,5 $\pm$ 0,2    | 10,2 $\pm$ 0,3    | 114,8 $\pm$ 1,9   | 38,1 $\pm$ 1,3    | 1674,1 $\pm$ 10,2  | 28,4 $\pm$ 5,4 | 1,1 $\pm$ 4,4 | 2,8 $\pm$ 9,1 |
| Carmenere13 | 1,50   | -1,20  | 8,5 $\pm$ 0,1     | 20,3 $\pm$ 0,0    | 238,1 $\pm$ 10,9  | 33,3 $\pm$ 0,8    | 2082,6 $\pm$ 15,2  | 55,8 $\pm$ 7,8 | 1,7 $\pm$ 4,5 | 1,5 $\pm$ 9,0 |
| CF08_112826 | 1,11   | -0,30  | 7,5 $\pm$ 0,2     | 25,7 $\pm$ 0,4    | 81,4 $\pm$ 0,0    | 28,5 $\pm$ 4,2    | 936,6 $\pm$ 8,8    | 2,2 $\pm$ 1,3  | < LOD         | < LOD         |
| CF09_113428 | 0,84   | -0,75  | 3,1 $\pm$ 1,3     | 29,0 $\pm$ 1,6    | 108,7 $\pm$ 6,2   | 24,2 $\pm$ 2,6    | 808,5 $\pm$ 34,2   | 11,6 $\pm$ 3,2 | < LOD         | < LOD         |
| CF10_142828 | 0,33   | -0,07  | 4,7 $\pm$ 0,6     | 16,3 $\pm$ 0,5    | 89,0 $\pm$ 10,2   | 26,7 $\pm$ 2,0    | 1022,2 $\pm$ 39,6  | 16,7 $\pm$ 4,0 | < LOD         | 2,8 $\pm$ 9,1 |
| CS_BAS      | 0,60   | -0,53  | 5,0 $\pm$ 0,1     | 3,2 $\pm$ 0,0     | 83,1 $\pm$ 16,8   | 53,8 $\pm$ 0,7    | 1707,1 $\pm$ 15,2  | 10,7 $\pm$ 3,1 | 1,1 $\pm$ 4,4 | < LOD         |
| Marcillac11 | 1,19   | -1,02  | 4,4 $\pm$ 1,2     | 5,3 $\pm$ 1,2     | 192,6 $\pm$ 47,3  | 29,7 $\pm$ 1,0    | 1137,5 $\pm$ 86,1  | 21,9 $\pm$ 4,6 | < LOD         | 1,5 $\pm$ 9,0 |
| PB_CS       | 0,91   | -0,66  | 6,0 $\pm$ 4,3     | 15,7 $\pm$ 1,4    | 96,5 $\pm$ 8,7    | 38,6 $\pm$ 0,9    | 932,2 $\pm$ 51,4   | 3,8 $\pm$ 1,7  | < LOD         | 1,2 $\pm$ 8,9 |
| HB_P1-NI    | 0,56   | -0,47  | 7,1 $\pm$ 1,7     | 17,3 $\pm$ 1,1    | 29,2 $\pm$ 6,1    | 37,2 $\pm$ 1,5    | 946,2 $\pm$ 10,3   | < LOD          | < LOD         | < LOD         |
| HB_P3-NI    | 0,38   | -0,50  | 7,5 $\pm$ 0,2     | 17,0 $\pm$ 0,6    | 38,4 $\pm$ 11,2   | 40,7 $\pm$ 2,7    | 1041,2 $\pm$ 58,5  | < LOD          | < LOD         | < LOD         |
| CF08_133208 | -0,55  | 0,12   | 5,3 $\pm$ 1,2     | 18,1 $\pm$ 1,2    | 116,5 $\pm$ 6,8   | 24,1 $\pm$ 2,0    | 792,8 $\pm$ 55,7   | 9,3 $\pm$ 2,9  | < LOD         | < LOD         |
| CF08_144762 | -0,64  | 0,75   | 5,9 $\pm$ 0,5     | 14,5 $\pm$ 0,4    | 110,8 $\pm$ 4,4   | 26,2 $\pm$ 1,7    | 847,7 $\pm$ 2,4    | 4,3 $\pm$ 1,9  | < LOD         | < LOD         |
| CF09_090573 | -0,26  | 0,47   | 2,8 $\pm$ 0,0     | 29,9 $\pm$ 0,1    | 118,8 $\pm$ 2,6   | 22,6 $\pm$ 0,5    | 757,8 $\pm$ 6,3    | 6,4 $\pm$ 2,3  | < LOD         | < LOD         |
| PV_CF       | -0,58  | 0,31   | 6,2 $\pm$ 0,4     | 6,9 $\pm$ 0,2     | 80,0 $\pm$ 9,1    | 34,6 $\pm$ 2,4    | 747,5 $\pm$ 7,9    | 2,7 $\pm$ 1,4  | < LOD         | < LOD         |
| PV_CS       | -0,73  | 0,14   | 10,2 $\pm$ 0,9    | 6,7 $\pm$ 0,6     | 87,2 $\pm$ 6,7    | 43,8 $\pm$ 3,9    | 1401,4 $\pm$ 61,7  | < LOD          | < LOD         | < LOD         |
| CS_DP_Haut  | -0,58  | -0,25  | 8,8 $\pm$ 1,1     | 7,0 $\pm$ 1,1     | 191,8 $\pm$ 24,3  | 55,3 $\pm$ 8,9    | 2036,8 $\pm$ 157,9 | 5,0 $\pm$ 2,0  | < LOD         | < LOD         |
| CS_LS03     | -0,58  | 0,84   | 9,5 $\pm$ 0,4     | 2,9 $\pm$ 0,2     | 50,8 $\pm$ 0,9    | 45,5 $\pm$ 7,7    | 1862,9 $\pm$ 226,3 | 5,5 $\pm$ 2,1  | < LOD         | < LOD         |
| CS_MTPB     | -0,51  | 0,49   | 6,1 $\pm$ 0,3     | 5,1 $\pm$ 0,1     | 68,7 $\pm$ 10,6   | 45,0 $\pm$ 5,9    | 1061,0 $\pm$ 42,9  | 4,3 $\pm$ 1,9  | < LOD         | < LOD         |
| CF10_113428 | -0,56  | 0,52   | 5,5 $\pm$ 0,3     | 13,7 $\pm$ 0,5    | 73,2 $\pm$ 0,5    | 30,7 $\pm$ 0,6    | 1131,4 $\pm$ 45,2  | 9,3 $\pm$ 2,9  | < LOD         | < LOD         |
| CF10_135539 | -0,79  | 0,45   | 4,0 $\pm$ 0,2     | 14,8 $\pm$ 0,1    | 79,1 $\pm$ 8,7    | 22,7 $\pm$ 1,6    | 894,1 $\pm$ 8,7    | 10,2 $\pm$ 3,0 | < LOD         | < LOD         |

### 3.2. Étude de la relation entre les variables sensorielles et analytiques

L'étude de la relation entre les variables sensorielles et analytiques a été réalisée par un test non paramétrique de Spearman qui permet l'établissement d'une matrice de corrélation (**Tableau 25**). Ce test a été préféré au test de Pearson puisque son application ne nécessite pas de conditions particulières sur la distribution des valeurs pour lesquelles le test statistique de Shapiro-Wilks montre, d'ailleurs, une absence de normalité.

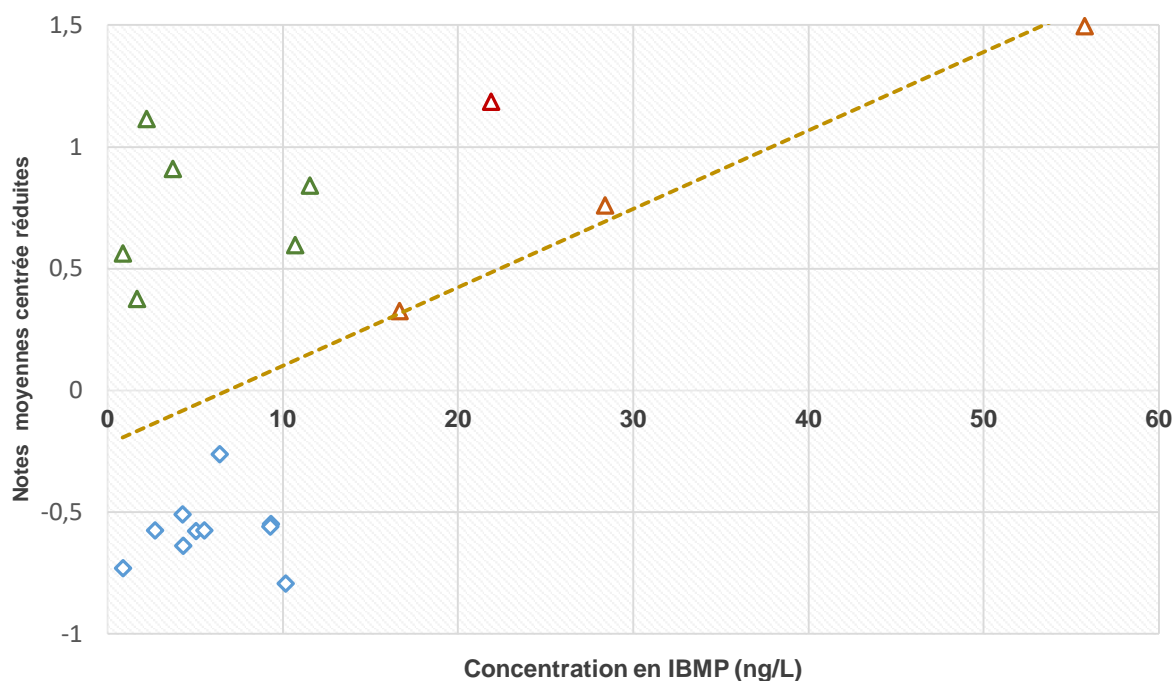
**Tableau 25. Matrice de corrélation obtenue par un test non paramétrique de Spearman.**

| Variables     | IPMP          | sBMP          | IBMP         | Hexanol       | (E)-3-hexenol | (Z)-3-hexenol | (E)-2-hexenol | (E)-2-hexenol | FRUI.         | VEG.          |
|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| IPMP          | 1             | <b>0,493</b>  | <b>0,593</b> | 0,314         | -0,038        | <b>0,480</b>  | 0,032         | 0,091         | <b>-0,593</b> | <b>0,559</b>  |
| sBMP          | <b>0,493</b>  | 1             | <b>0,556</b> | <b>0,527</b>  | 0,232         | 0,329         | -0,073        | 0,278         | <b>-0,532</b> | 0,438         |
| IBMP          | <b>0,593</b>  | <b>0,556</b>  | 1            | 0,251         | -0,304        | <b>0,585</b>  | 0,029         | -0,347        | -0,362        | 0,334         |
| Hexanol       | 0,314         | <b>0,527</b>  | 0,251        | 1             | <b>0,699</b>  | 0,074         | <b>-0,504</b> | <b>0,568</b>  | -0,263        | 0,162         |
| (E)-3-hexenol | -0,038        | 0,232         | -0,304       | <b>0,699</b>  | 1             | -0,289        | <b>-0,672</b> | <b>0,665</b>  | -0,090        | -0,030        |
| (Z)-3-hexenol | <b>0,480</b>  | 0,329         | <b>0,585</b> | 0,074         | -0,289        | 1             | 0,226         | -0,153        | -0,414        | 0,275         |
| (E)-2-hexenol | 0,032         | -0,073        | 0,029        | <b>-0,504</b> | <b>-0,672</b> | 0,226         | 1             | -0,296        | -0,250        | 0,346         |
| (Z)-2-hexenol | 0,091         | 0,278         | -0,347       | <b>0,568</b>  | <b>0,665</b>  | -0,153        | -0,296        | 1             | -0,065        | -0,054        |
| FRUI.         | <b>-0,593</b> | <b>-0,532</b> | -0,362       | -0,263        | -0,090        | -0,414        | -0,250        | -0,065        | 1             | <b>-0,805</b> |
| VEG.          | <b>0,559</b>  | 0,438         | 0,334        | 0,162         | -0,030        | 0,275         | 0,346         | -0,054        | <b>-0,805</b> | 1             |

\* Chaque valeur de la matrice représente les coefficients de corrélation entre deux variables. Les valeurs en gras et en rouge sont différentes de 0 à un niveau de significativité  $\alpha=0,05$ .

Ces résultats révèlent qu'aucune corrélation significative n'existe entre les notes de représentativité à la famille aromatique du végétal et les concentrations en alcools en C6. Pour certains tel que le (E)-3-hexenol et le (Z)-2-hexenol, la tendance apparaît même comme inversée.

De même, si l'évolution de l'IBMP va dans le même sens que l'expression aromatique végétale des vins (coefficient de corrélation de 0,334), l'hypothèse d'une corrélation entre les variables sensorielles et analytiques est rejetée ( $p\text{-valeur} > 0,05$ ). Afin d'affiner notre interprétation quant à ce résultat, une représentation graphique des vins a été réalisée (**Figure 32**).



**Figure 32.** Nuage de points des vins étudiés représentant les notes moyennes centrées réduites d'exemplarité à la famille aromatique du végétal en fonction des concentrations en IBMP (ng/L).  $\rho$ , coefficient de Spearman.  $\Delta$ , bons modèles ;  $\diamond$ , mauvais modèles.

Si la totalité des vins appartenant au groupe des « mauvais modèles » (en bleu) ne contiennent pas de teneurs en IBMP supérieures à 10 ng/L, la réciproque n'est pas exacte puisque tous les « bons modèles » n'ont pas, pour autant, des teneurs importantes en cette molécule. Dans le cas du vin de Carmenère (en orange), par exemple, son expression végétale trouve certainement son origine dans sa très forte teneur en IBMP (55 ng/L) au regard de son seuil de détection olfactive. En outre, cette interprétation s'applique probablement aussi au vin d'Anjou du millésime 2008 (en orange) contenant 28,4 ng/L d'IBMP. En revanche, le vin de Marcillac du millésime 2011 (en rouge) voit son expression végétale surexprimée par rapport à sa concentration en IBMP (21,9 ng/L).

La teneur qu'il contient ne semble pas en mesure d'expliquer totalement son degré d'appartenance à la famille aromatique du végétal. Par conséquent, la formulation d'hypothèses quant à la contribution d'autres composés odorants, en complément de l'IBMP, peut être formulée. Par exemple, les concentrations en (Z)-3-hexenol qu'il contient (192,6 µg/L), au-dessus du seuil de perception théorique dans l'eau de 70 µg/L, permettent d'envisager une synergie avec l'IBMP, énoncée par Escudero *et al.* (2007). Enfin, un certain nombre d'autres vins (symbolisés par un triangle vert sur la **Figure 32**), présentent une odeur végétale tout en possédant des teneurs en IBMP inférieures au seuil de détection olfactive de la molécule (15 ng/L dans les vins rouges) ; suggérant aussi la contribution d'autres composés.

Finalement, seules les concentrations en IPMP montrent une corrélation avec l'expression aromatique végétale des vins étudiés (*p-valeur* = 0,011). Comme nous l'avons énoncé, l'incertitude dans la fidélité de l'analyse à basse concentration, ainsi que le faible nombre d'échantillons concernés, nous pousse à mesurer nos conclusions quant à l'implication exacte de ce composé dans la genèse de ces nuances. Le bon niveau de corrélation qu'entretiennent ces teneurs avec celles de l'IBMP (*p-valeur* = 0,007), tout comme celles de la sBMP (*p-valeur* = 0,012), sous-entend aussi que trois méthoxypyrazines pourraient avoir une origine commune, notamment au niveau de leur voie de biosynthèse comme cela a pu être suggéré pour l'IPMP (**Etude bibliographique, § 1.3.1**). Ainsi, il est possible que, dans certaines situations, elles se joignent à l'IBMP pour accroître l'odeur végétale des vins rouges. Il en va de même pour le (Z)-3-hexenol dont le niveau de corrélation avec l'IBMP (*p-valeur* = 0,008) semble aussi traduire l'existence de facteurs de variations communs. L'évolution simultanée de ces composés au cours du développement de la baie de Cabernet-Sauvignon a ainsi été considérée dans le **chapitre 6**.

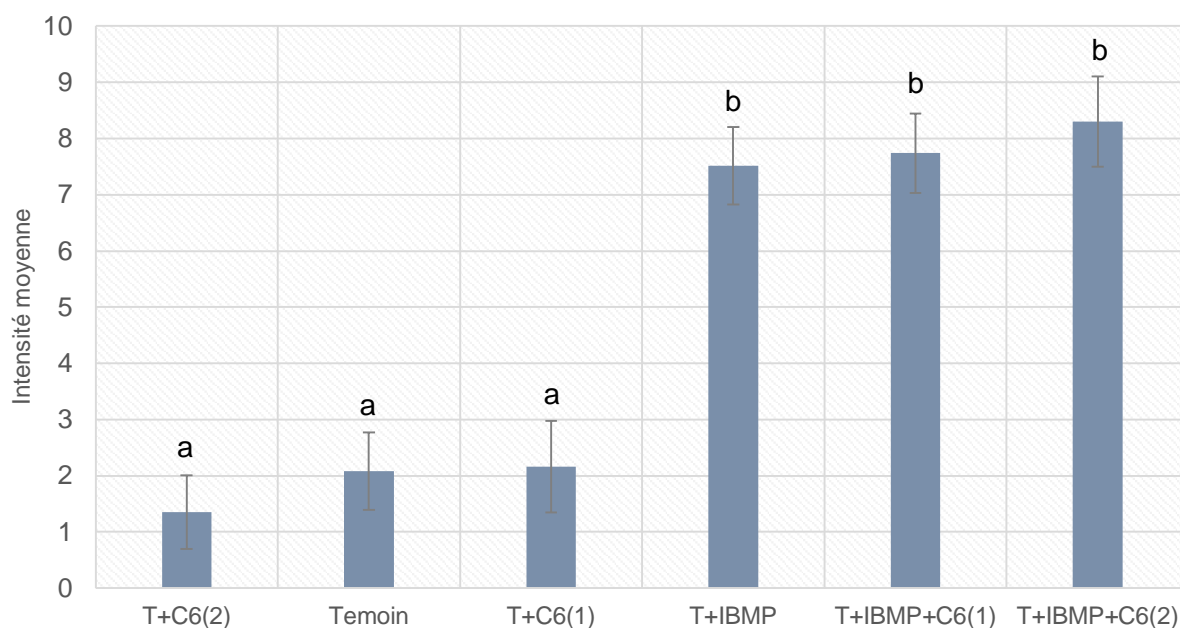
Enfin, cette analyse souligne aussi le fort antagonisme qui existe entre les deux familles aromatiques étudiées : fruitée et végétale. Le coefficient (-0.805) ainsi que la *p-valeur* (< 0,0001) affirment cette relation qui avait déjà été énoncée dans plusieurs études (**Etude bibliographique, § 1.2.2**). Par conséquent, ces résultats traduisent l'intérêt qui existe à étudier et à mieux comprendre l'origine de ces tonalités aromatiques qui sont autant de modulateurs négatifs de l'expression fruitée des vins rouges, et donc, dans une certaine mesure, de leur qualité aromatique.

## **4. ETUDE DE L'IMPACT SENSORIEL DES MOLECULES ETUDIEES**

### **4.1. Considérations des alcools en C6 insaturés**

L'étude des corrélations a établi une absence de lien entre la concentration en alcools en C6 et en IBMP avec l'expression aromatique végétale des vins rouges. Néanmoins, dans certains cas (vin de Marcillac), l'observation a été faite de concentrations élevées à la fois en (Z)-3-hexenol et en IBMP qui pourrait conduire à une surexpression des notes végétales.

Afin de préciser ce phénomène, une expérience sensorielle a été conduite par le *panel 2*. Elle consistait à compléter, dans un vin rouge témoin de Bordeaux, plusieurs alcools en C6 insaturés (*E*)-3-hexenol, (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-2-hexenol, (*Z*)-2-hexenol à deux niveaux de concentration, l'un noté C6(2) correspondant aux concentrations maximales dans le groupe des 70 vins de l'échantillonnage initial à savoir 70, 250, 50, 15 µg/L respectivement ; l'autre C6(1), correspondant aux concentrations maximales divisées par deux : 50, 100, 25, 10 µg/L. Certaines modalités ont été additionnées avec 20 ng/L d'IBMP.

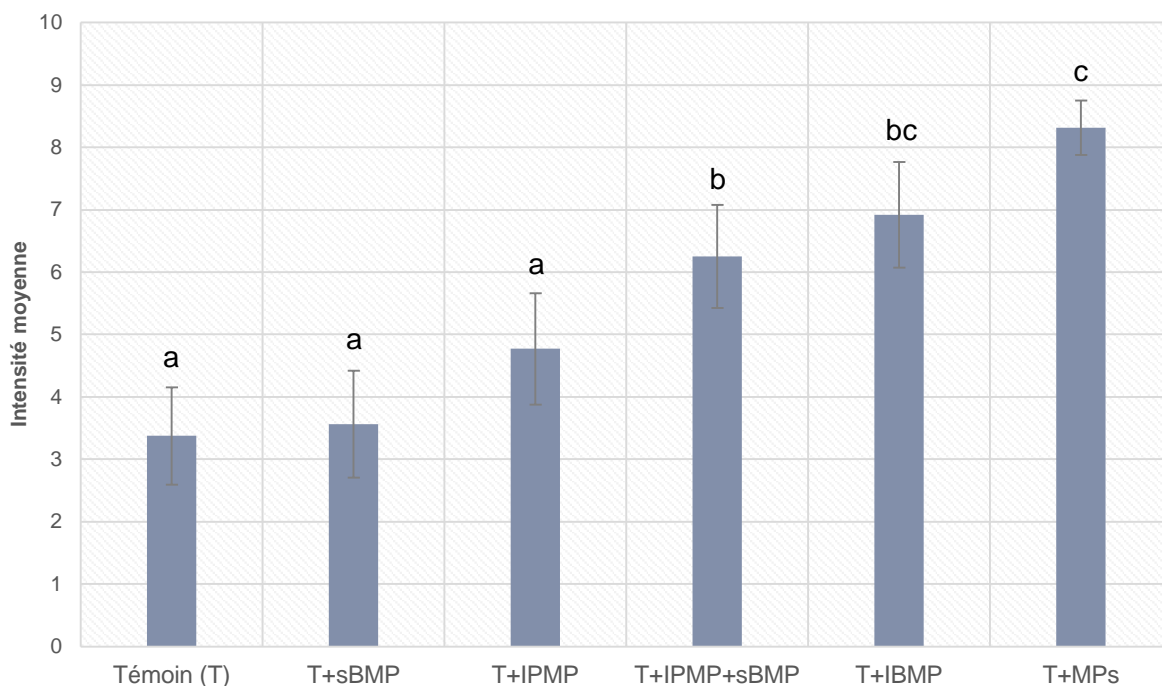


**Figure 33. Intensité moyenne du descripteur « végétal » dans les différentes modalités supplémentées par les alcools en C6 insaturés ou par l'IBMP.** La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95%. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$  valeur < 0,05).

Les résultats de cette analyse sensorielle montrent l'absence d'impact olfactif des alcools en C6 insaturés aux 2 niveaux de concentration sélectionnés, seuls ou en présence d'IBMP (25 ng/L). Cela permet donc de souligner que ces composés ne peuvent contribuer, dans les gammes de concentrations mesurées, à accroître significativement la perception des nuances végétales dans les vins, y compris en présence d'IBMP.

## 4.2. Considération de la sBMP et de l'IPMP

Pour finir, l'hypothèse formulée (§ 3.2) quant à une possible implication sensorielle de l'IPMP et de la sBMP, parfois détectées dans quelques vins de la catégorie des « bons modèles », a été étudiée. Des modalités incluant un vin rouge de Bordeaux additionné par ces molécules, dont la concentration initiale était inférieure à la limite de détection, ont ainsi été soumises à l'évaluation du *panel 2* sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » (**Figure 34**). Les concentrations supplémentées étaient en accord avec les teneurs estimées dans les vins rouges (**Tableau 24**) : 1,5 ng/L de sBMP ; 2,5 ng/L d'IPMP ; 20 ng/L d'IBMP.



**Figure 34. Intensité moyenne du descripteur « végétal » dans les différentes modalités supplémentées par la sBMP, l'IPMP, l'IBMP ou les trois méthoxypyrazines (MPs).** La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95%. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$  valeur < 0,05).

Cette évaluation sensorielle a révélé que, à l'inverse de l'IBMP, l'addition aux concentrations retrouvées dans les vins des autres méthoxypyrazines seules (sBMP et IPMP) n'avait aucun impact sur l'intensité perçue du descripteur « végétal ». En revanche, comme notre hypothèse précédente l'envisageait, l'ajout simultané de la sBMP et de l'IPMP engendre une différence significative sur cette même perception, suggérant ainsi un effet d'additivité entre ces deux molécules. En outre, l'intensité perçue du mélange sur le descripteur « végétal » est équivalente à la modalité contenant 20 ng/L d'IBMP.

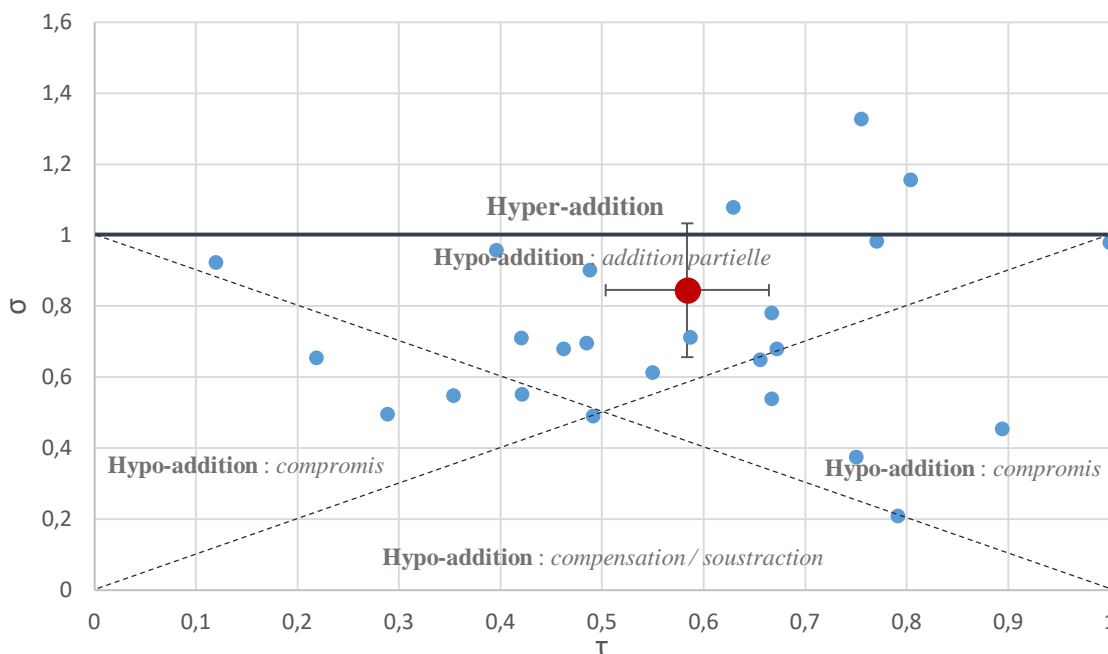
L'interaction perceptive entre ces deux composés a alors été caractérisée en s'appuyant sur le modèle de Patte et Laffort (1979), déjà appliqué à l'étude des interactions perceptives dans le vin rouge par Lytra *et al.* (2012). Dans cette approche, nous avons considéré que le mélange correspondait à un mélange homogène puisque l'évaluation portait uniquement sur le descripteur « végétal » et non pas sur les nuances qui sont associées à ce descripteur.

La représentation [ $\sigma = f(\tau)$ ] du modèle permet de différencier plusieurs secteurs caractérisant le mélange binaire. L'addition est complète ( $\sigma = 1$ ) lorsque l'intensité du mélange est égale à la somme des intensités respectives des odorants qui le composent.

L'hyper-addition ( $\sigma > 1$ ) correspond à une intensité supérieure ; dans le cas d'un mélange hétérogène, on parlera d'effet de synergie, bien que ce terme soit employé de manière assez indistincte dans la littérature. Ce type d'interaction reste toutefois assez rare et l'addition répond le plus souvent à un effet d'hypo-addition (**Etude bibliographique, § 3.2.2.2**).

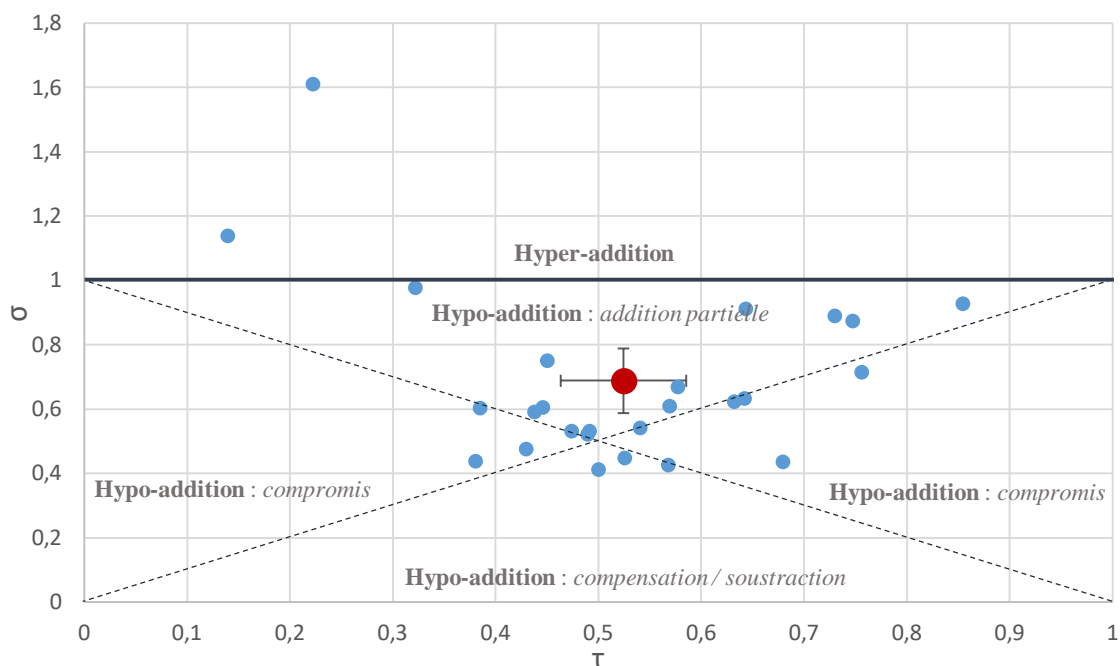
Le mélange binaire de l'IPMP et de la sBMP, à 2,5 et 1,5 ng/L respectivement, donne également lieu à un effet d'hypo-addition (**Figure 35**). Toutefois, cette hypo-addition est une addition partielle, ce qui signifie que le mélange a bien une intensité « végétale » supérieure à chacun des constituants pris individuellement. D'ailleurs, le mélange est proche de l'addition complète ( $\sigma = 1$ ).

D'autre part, l'addition de l'IPMP et de la sBMP à un échantillon contenant 20 ng/L d'IBMP suggère aussi une tendance quant à l'augmentation de l'intensité végétale perçue (**Figure 34**). La représentation de Patte et Laffort (**Figure 36**) indique que cette addition est également une hypo-addition partielle, mais située, cette fois, en limite de l'addition de compromis ; ce qui traduit un effet plutôt limité sur l'intensité du mélange.



**Figure 35.** Effet de l'addition de sBMP (1,5 ng/L) sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » d'un vin rouge contenant 2,5 ng/L d'IPMP. Représentation graphique [ $\sigma = f(\tau)$ ] par Patte et Laffort (1979). Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95 % des valeurs  $\sigma$  et  $\tau$ , chaque point en bleu symbolise l'évaluation par un juge, le point en rouge est la moyenne de ceux-ci.





**Figure 36.** Effet de l'addition de sBMP (1,5 ng/L) et d'IPMP (2,5 ng/L) sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » d'un vin rouge contenant 20 ng/L d'IBMP. Représentation graphique [ $\sigma = f(\tau)$ ] par Patte et Laffort (1979). Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95 % des valeurs  $\sigma$  et  $\tau$ , chaque point en bleu symbolise l'évaluation par un juge, le point en rouge est la moyenne de ceux-ci.

Ainsi, la mise en évidence des phénomènes d'additivité entre les 2-méthoxy-3-alkylpyrazines dans un vin rouge neutre conduit à supposer que la présence de la sBMP et de l'IPMP dans certains vins (Anjou 08 ; Carmenere13), même à des niveaux de concentration proche de leur seuil de détection olfactive dans l'eau, conduit à un renforcement de leur expression végétale.

## 5. CONCLUSION

Le protocole consistant à sélectionner un large échantillonnage de 70 vins a conduit à un modèle d'étude comprenant une vingtaine de vins très contrastés quant à leur expression végétale, et dont le degré de représentativité à cette famille aromatique résultait d'un fort consensus entre les juges.

La confrontation de données sensorielles de ces vins avec l'analyse quantitative des alcools en C6 et de l'IBMP n'a pas permis d'établir de corrélations significatives.

Si les teneurs en IBMP peuvent contribuer à l'expression végétale de certains vins ; dans d'autres, en revanche, elles n'ont aucun lien avec celle-ci. De même, notre approche a permis d'exclure la contribution, directe ou indirecte, des alcools en C6 à la composante végétale des vins, malgré les propriétés odorantes de ces composés, et contrairement à ce qui est mentionné dans de nombreux travaux (**Etude bibliographique, § 1.3.2**). Aussi, les notes « herbacées, herbes coupées » décrites au **chapitre 1** comme constitutives de la famille aromatique du végétal dans les vins rouges ne sont pas apportées par ces composés odorants. À l'inverse, notre approche a révélé que la présence simultanée de l'IPMP et de la sBMP permettait d'accroître de manière significative l'expression végétale des vins. De même, celle-ci se trouve légèrement renforcée par l'ajout de ces méthoxypyrazines en supplément de l'IBMP. Aussi, la présence de l'IPMP et de la sBMP pourrait donc contribuer à expliquer, dans certains cas, une partie de l'odeur végétale perçue dans les vins rouges. Toutefois, du fait de la ponctualité de cette occurrence, l'hypothèse de l'existence d'autres constituants aromatiques qui contribuent à accroître les nuances végétales, seuls ou en association avec l'IBMP, peut être formulée.

Enfin, l'observation des « bons modèles » nous a renseignés sur les origines possibles de ces nuances. Pour la plupart des Cabernets, il semble que les conditions de maturation aient été rendues difficiles par une topographie défavorable et un sol plutôt hydromorphe (CS\_BAS ; PB\_CS), une limite de culture septentrionale du cépage (Anjou08) ou des conditions climatiques difficiles (Carmenère13). L'hypothèse d'une relation de cette expression végétale avec les conditions de maturation des raisins a donc été formulée et a constitué l'objet de la **seconde partie** de notre étude. Deux vins de presse de merlot (HB\_P3-NI ; HB\_P1-NI) font également partie intégrante des « bons modèles ». Le vin de goutte ne présentant pas de caractère végétal particulier, il est logique de penser que celui-ci soit bien imputable au pressurage; cette hypothèse a donc servi de support à la **troisième partie**. Enfin, nous ne pouvons exclure d'autres origines, liées par exemple à la variété elle-même (Fer Servadou), mais aussi à des facteurs exogènes dont certains ont été évoqués dans la **quatrième partie** de notre étude.

## **DEUXIÈME PARTIE :**

# **RECHERCHE DE NOUVEAUX MARQUEURS VOLATILS DES NOTES VÉGÉTALES EN LIEN AVEC LE STADE DE MATURITÉ DES RAISINS**

# **Chapitre 4. Approche sensorielle et analytique ciblée sur des vins expérimentaux issus de raisins noirs récoltés à des stades de maturité contrastés**

## **1. INTRODUCTION**

Pour le biologiste, la maturité du raisin correspond au stade de germination du pépin, soit un peu avant la véraison. Cependant, en œnologie, cette notion de maturité ne constitue pas un stade physiologique précis. La maturité de la pulpe, correspondant à un rapport sucre/acide optimal, est différenciée de la maturité pelliculaire et aromatique. Dans le cas des raisins destinés à l'élaboration des vins rouges, l'appréciation de ces deux derniers critères dépend des objectifs du vinificateur ; leur optimum correspond souvent à un niveau d'évolution du potentiel aromatique et polyphénolique qui soit conforme à ses exigences en vue de l'élaboration du vin souhaité. Cela intègre des dimensions d'intensité, de complexité, d'expression variétale ou d'extractibilité satisfaisante (Ribéreau-Gayon *et al.* 2012). Ainsi, il y a un grand intérêt à s'intéresser, au cours de la maturation des raisins, à l'évolution du potentiel aromatique dans la baie. Cette évolution concerne l'accumulation de composés volatils et leurs précurseurs susceptibles de contribuer aux nuances fruitées, florales, épicées de l'arôme des vins. Inversement, d'autres familles de composés, telle que l'IBMP, voient leurs concentrations diminuer (**Etude bibliographique, § 1.3.1**).

Le chapitre précédent (**chapitre 3**) a révélé que l'expression aromatique végétale de certains vins, possiblement associée à un manque de maturité des grappes, ne pouvait être systématiquement réduite aux seules concentrations en 2-méthoxy-3-alkylpyrazines. Aussi, sans nier la réalité de son implication dans les nuances végétales de nombreux vins rouges présentant cette caractéristique, il est apparu que sa perception pourrait être modulée par la présence d'autres composés volatils.

Dès lors, la démarche entreprise dans ce chapitre avait pour objectif principal de rechercher de nouveaux marqueurs volatils, en lien avec la maturité des raisins, dont l'implication à l'expression végétale des vins est suspectée. Dans ce but, une combinaison d'approches sensorielles et analytiques a été appliquée à un modèle de vins expérimentaux, en joignant, notamment, le fractionnement par CLHP semi-préparative à la chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse (MDCPG-O-SM).

## **2. VALIDATION DU MODÈLE D'ÉTUDE**

Afin de pouvoir étudier spécifiquement les arômes végétaux des vins rouges qui ont un lien avec la maturité des raisins, nous avons choisi de travailler sur un modèle d'étude permettant d'isoler au maximum ce paramètre. L'autre avantage principal de cette approche réside dans le fait qu'elle nous permettait d'accentuer le phénomène afin de donner lieu à des vins d'étude bien contrastés. Elle permettait aussi d'obtenir des volumes suffisants de vin pour assurer le travail de caractérisation.

La question de l'espacement des dates de récoltes entre les deux points du modèle a toutefois été posée et ne pouvait être résolue que par une appréciation personnelle du compromis entre la recherche d'un contraste maximum et le maintien d'une réalité œnologique. Ainsi, des raisins de Merlot et de Cabernet Sauvignon ont été vendangés en 2014 et 2015, sur les mêmes rangs d'une même parcelle, à un mois d'intervalle (**Tableau 26**). La récolte à maturité optimale (*Maturité+*) s'est déroulée la veille de la vendange de la parcelle par la propriété. Les vins ont ensuite été vinifiés dans des conditions qui ont essayé de se rapprocher au plus près de la vinification bordelaise, notamment par leur temps de macération (3 semaines environ). Malgré des acidités plus élevées dans les raisins issus des vendanges précoces (*Maturité-*), aucun souci n'a été observé dans le déroulement des fermentations.

**Tableau 26. Date de récolte, paramètres technologiques et description sensorielle réalisée par 3 experts des vins modèles de Merlot (M) et de Cabernet Sauvignon (CS) au cours des millésimes 2014 et 2015.**

| Modalité         | Cépage | Date de récolte | % TAV | pH   | Arômes  |
|------------------|--------|-----------------|-------|------|---|
| <b>Maturité-</b> | M      | 05/09/14        | 9,7   | 3,25 | Fruits rouges (cerise, framboise), très frais           |
| <b>Maturité-</b> | CS     | 12/09/14        | 9,5   | 3,51 | Fortement végétaux : poivron vert, herbacé, frais       |
| <b>Maturité+</b> | M      | 03/10/14        | 13,0  | 3,53 | Fruits rouges (cerise, framboise, fraise)               |
| <b>Maturité+</b> | CS     | 12/10/14        | 12,0  | 3,74 | Fruits noirs (cassis, mûre), légèrement fumé            |
| <b>Maturité-</b> | CS     | 01/09/15        | 9,5   | 3,42 | Baies fraîches, cassis                                  |
| <b>Maturité+</b> | CS     | 01/10/15        | 11,9  | 3,70 | Fruits rouges et noirs (fraise, mûre, cassis), réglisse |

Cela permet de constater que, même lorsqu'ils proviennent d'un état de sous-maturité avancée des raisins, les vins de Merlot n'expriment pas de nuances végétales particulières. Leur expression se situe toujours autour du fruit et tend simplement à plus de fraîcheur aromatique, évoquant notamment les notes de framboise ou de cerise fraîche lorsque les raisins sont récoltés prématurément. En ce sens, ce cépage ne constitue pas un bon modèle d'étude de l'expression végétale en lien avec la sous-maturité de raisin ; c'est la raison pour laquelle il n'a pas été reproduit sur le millésime 2015. À l'inverse du Merlot, le Cabernet Sauvignon est en mesure d'exprimer de manière très intense des notes végétales dans le cas de la modalité précoce (*Maturité-*) sur le millésime 2014. Ces notes rappellent le poivron vert et l'odeur de l'IBMP, auxquels se joignent des nuances d'herbes et des odeurs très fraîches. Ces arômes sont toutefois nettement moins présents sur la modalité équivalente du millésime 2015. Enfin, dans chacun des cas, le vin de maturité optimale (*Maturité+*) exprimait des nuances majoritairement fruitées (rouges et noirs), qui s'apparentent au cassis, à la fraise et à la mûre avec, dans le cas du millésime 2014, une fine note de végétal frais.

Ces observations sensorielles approuvent l'hypothèse du lien entre la maturité des raisins et l'expression végétale des vins de Cabernet Sauvignon, tout en validant le choix de ce modèle d'étude. Le millésime 2014, par son contraste important entre les deux modalités, est donc apparu comme le modèle privilégié sur lequel s'est basée la recherche et la caractérisation des déterminants moléculaires.

### 3. MISE EN ÉVIDENCE DE FRACTIONS D'INTÉRÊT PAR CLHP SEMI-PREPARATIVE

#### 3.1. Caractérisation olfactive

L'application d'un fractionnement par CLHP sur les extraits organiques des deux modalités de Cabernet Sauvignon sur le millésime 2014 a permis d'obtenir, par l'utilisation d'un gradient eau/éthanol, 50 fractions qui ont pu faire l'objet d'une description olfactive sans nuisance des odeurs de solvant.

Selon notre définition, une fraction d'intérêt est une fraction qui exprime une partie ou la totalité des nuances aromatiques caractéristiques de l'extrait initial, et dont la variation qualitative ou quantitative va dans le sens de celle attendue. Appliqué à notre cas, une fraction d'intérêt se doit d'exprimer des nuances végétales caractéristiques de la modalité *Maturité-* et dont l'odeur est diminuée ou absente dans les fractions de la modalité *Maturité+*.

L'évaluation sensorielle des fractions obtenue a été réalisée par trois juges expérimentés selon une tâche de génération libre de vocabulaire. Sur les 50 fractions obtenues, 4 seulement répondaient entièrement à cette définition (**Tableau 27**).

**Tableau 27. Description sensorielle des fractions obtenues par CLHP à partir des vins de Cabernet Sauvignon (2014) aux deux stades de maturité des raisins (*Maturité-* et *Maturité+*).**

| N° Fraction | <i>Maturité-</i>        | <i>Maturité+</i>                | Groupe   |
|-------------|-------------------------|---------------------------------|----------|
| 31          | Herbe coupée, fruité    | Safran, épicé, fruité           | <b>A</b> |
| 32          | Herbe coupée, bois vert | Fruité                          |          |
| 35          | Frais, mentholé         | Fruité                          | <b>B</b> |
| 36          | Poivron vert, mentholé  | Fruit frais, légèrement végétal |          |

Les 4 fractions d'intérêt exprimaient, dans la modalité *Maturité-*, trois des nuances principales du caractère végétal (**chapitre 1**), associées à la sous-catégorie du végétal

frais : herbacé, herbe coupée pour les fractions 31 et 32 ; poivron vert et mentholé pour les fractions 35 et 36. De plus, la différence entre les deux vins sur ces fractions ne portait pas uniquement sur l'intensité de la perception de ces odeurs. Les fractions correspondantes (*Maturité+*) avaient une expression à dominante fruitée. Considérant l'antagonisme entre ces deux catégories d'odeurs (**chapitre 3**), deux hypothèses peuvent alors être formulées : soit la différence observée a pour origine la diminution de molécules aromatiques aux tonalités végétales dans la modalité *Maturité-*, soit elle résulte d'une augmentation des arômes fruités dans la modalité *Maturité+*. Bien entendu, il est aussi possible que cette différence soit le résultat croisé de ces deux phénomènes. Quoiqu'il en soit, cette méthode atteste de sa capacité à conserver, sinon la totalité, une partie intéressante des différences aromatiques qui existe entre les vins de notre modèle d'étude sur ces nuances spécifiques.

Du fait de la similitude dans leurs odeurs, les fractions 31, 32 et 35, 36 ont été regroupées par paire pour la suite de l'étude, formant ainsi les groupes A et B respectivement.

### 3.2. Validation de l'impact sensoriel des fractions d'intérêt

Afin de valider l'impact sensoriel des deux groupes de fractions sélectionnées sur la perception du caractère végétal, des tests sensoriels d'omission et d'addition ont été réalisés au cours d'une même session d'analyse sensorielle. Le *panel 3* a évalué l'intensité du descripteur « végétal », associé à la famille aromatique plutôt qu'aux nuances spécifiques des fractions ; cela, afin de ne pas exclure la possibilité d'un effet perceptif dans le mélange.

Un *test d'omission* a d'abord été réalisé à partir de fractions de l'extrait organique du vin exprimant de fortes nuances végétales (*Maturité-*). Concrètement, deux modalités ont été distinguées : reconstitution avec une exclusion du groupe A (fractions 31 et 32) ou exclusion du groupe B (fractions 35 et 36). Après dilution des fractions dans de l'eau ultrapure afin d'obtenir un mélange à 12 % éthanol (v/v), les fractions reconstituées ont été évaluées sur le critère de l'intensité perçue du caractère végétal. Les résultats du test sensoriel montrent que la reconstitution aromatique totale des fractions (RA) est bien perçue comme végétale par le panel de juges (moyenne de  $6,4 \pm 1,2$  sur une échelle de 10), illustrant la capacité de maintien de l'intégrité aromatique de l'extrait initial et validant, dans le même temps, la robustesse du panel sollicité (**Tableau 28**).



Ensuite, l'omission des fractions 35 et 36 (RA-B) de cette reconstitution conduit à une diminution très significative de la perception de l'odeur végétale ( $3,8 \pm 1,3$  ;  $p\text{-valeur} = 1,28.10^{-4}$ ). En revanche, l'exclusion des fractions 31 et 32 (RA-A) n'a aucun impact ( $p\text{-valeur} = 0,77$ ). De plus, aucun effet d'additivité entre ces deux groupes de fraction n'est observé puisque l'intensité de la perception des nuances végétales dans la reconstitution pour laquelle les groupes A et B ont été éliminés (TAR-[A+B]) ne diffère pas des résultats obtenus avec l'échantillon TAR-B ( $p\text{-valeur} = 0,99$ ). Malgré les caractéristiques végétales et herbacées des fractions 31 et 32, les composés associés à ce groupe de fraction semblent n'avoir aucun impact sur la perception des arômes végétaux du mélange, à l'inverse des fractions constituant le groupe B (35, 36).

**Tableau 28. Notes moyennes obtenues sur l'intensité du descripteur « végétal ».**

| Test d'omission |                  | Test d'addition |                  |
|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| Echantillon     | Moyenne $\pm$ IC | Echantillon     | Moyenne $\pm$ IC |
| RA              | $6,4 \pm 1,2$ a  | M-              | $8,9 \pm 0,8$ d  |
| RA-B            | $3,8 \pm 1,3$ b  | M+              | $4,2 \pm 1,5$ ab |
| RA-[A+B]        | $3,8 \pm 1,1$ b  | M+ [+A]         | $3,7 \pm 1,1$ a  |
| RA-A            | $6,8 \pm 1,2$ a  | M+ [+A+B]       | $5,6 \pm 1,3$ bc |
|                 |                  | M+ [+B]         | $7,7 \pm 1,2$ c  |

\* Test d'omission : RA (Reconstitution Aromatique) ; RA-A (sans les fractions 31 et 32) ; RA-B, sans les fractions 35 et 36 ; RAT-[A+B], sans les fractions 31, 32, 35 et 36. Test d'addition dans le vin : M- (Maturité-) ; M+ (maturité+) ; M+ [+A], additionné des fractions 31 et 32 ; M+ [+B], additionné des fractions 35 et 36 ; M+ [+A+B], additionné des fractions 31, 32, 35 et 36. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par l'analyse de variance ( $p\text{-valeur} < 0,05$ ). IC, intervalle de confiance à 95 %

Concernant le **test d'addition**, il se positionne comme un complément au test précédent qui vise à considérer l'impact d'un ajout des fractions dans le vin lui-même. En d'autres termes, il avait pour objectif d'estimer la capacité des fractions à conférer, au vin de pleine maturité, un caractère végétal propre au vin dont les raisins ont un niveau de maturité déficitaire. Ce test a été réalisé par un ajout de 0,2  $\mu$ L (facteur 2 par rapport au vin initial avec un rendement hypothétique de 100 %) du groupe A et du groupe B, obtenus à partir de 750 mL de vin de la modalité *Maturité-*, dans 35 mL de vin de la modalité *Maturité+*.

Les résultats de l'addition du groupe A dans le vin confirment ceux du test d'omission puisqu'aucun effet n'a pu être observé sur l'intensité perçue des arômes végétaux ( $p$ -valeur = 0,70). En revanche, une différence significative importante ( $p$ -valeur < 0,001) est observée entre le vin témoin (M+) et le vin supplémenté par les fractions 35 et 36 (M+ [+B]). Ces résultats confirment l'impact des fractions du groupe B (35, 36) sur la perception de nuances aromatiques végétales. De fait, des variations de concentration dans les composés aromatiques présents dans ces fractions expliquent vraisemblablement, au moins partiellement, une part des différences aromatiques entre les deux modalités de vins (*Maturité*- et *Maturité*+). Enfin, la différence significative qui persiste ( $p$ -valeur = 0,017) entre le vin de la modalité *Maturité*+ supplémentée par le groupe B (M+ [+B]) et le vin de la modalité *Maturité*- (M-) suggère que d'autres fractions pourraient contribuer à intensifier ces arômes par des effets perceptifs d'hyper-addition. Il est aussi possible que les composés aux odeurs fruitées associées à un optimum de maturité des raisins viennent masquer une partie des arômes végétaux (phénomène d'hypo-addition ou d'antagonisme).

#### **4. ANALYSE DES FRACTIONS D'INTÉRÊT PAR MDCPG-O-SM/TOF ET CARACTERISATION DE COMPOSES AUX NUANCES VEGETALES**

Compte tenu de l'impact olfactif dans la perception du caractère végétal associé au groupe B (fractions 35 et 36 de CLHP), il est apparu pertinent de caractériser les composés cibles dans ces fractions. Les deux groupes de fractions, après avoir été réextraits, ont donc été analysés par chromatographie multidimensionnelle couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse à temps-de-vol (MDCPF-O-SM/TOF). Cette technique avait pour objectif de permettre une séparation efficiente des composés odorants de la fraction afin de faciliter leur caractérisation. Pour cela, les deux systèmes chromatographiques étaient constitués par deux colonnes dont les polarités respectives assuraient une bonne orthogonalité du système, à savoir une colonne de type BP20 en première dimension ( $^1D$ ), une colonne de type DB1 en seconde dimension ( $^2D$ ). Sur chacune des zones odorantes d'intérêt, de courts « heart-cut », n'excédant pas 1 minute, ont été réalisés. L'intérêt de cette restriction était de maximiser les chances de

résolution du ou des pics d'intérêt à la sortie de la seconde dimension, permettant ainsi l'obtention d'un spectre de masse interprétable.

**L'analyse du groupe A** de fractions a révélé que l'hexanol, dont l'odeur évoque l'herbe coupée (**Etude bibliographique, § 1.3.2**), a été identifié comme l'un des constituants odorants majoritaires dans le groupe A (fractions 31 et 32). Cette observation est en accord avec l'odeur caractéristique de ce groupe de fraction de CLHP et souligne le faible impact olfactif de ce composé dans les vins rouges, qu'il soit seul ou en mélange avec d'autres molécules aux caractéristiques végétales (groupe B). Bien que certaines études ont pu reporter une décroissance de celui-ci au cours de la maturation des baies (Bindon *et al.*, 2014), il semble qu'il ne semble pas contribuer aux odeurs végétales des vins produits à partir de raisins immatures.

**L'analyse du groupe B** de fractions a mis en lumière plus de 70 zones odorantes, et ceux, malgré le fractionnement par CLHP en amont qui permet de simplifier la matrice. Sur la totalité des zones odorantes, seulement une vingtaine présentait des tonalités appartenant à la famille aromatique du végétal (**Tableau 29**). Parmi elles, une seule (**ZO 2**) n'était pas perçue dans la modalité témoin (*Maturité+*). Si d'autres, en revanche, semblaient voir leur intensité diminuer entre les deux modalités, dans le sens de la maturité des raisins, aucune ne présentait une augmentation d'intensité dans la modalité *Maturité+*.

Notons qu'il est toutefois difficile d'estimer une variation de concentration dans le vin initiale en se basant sur l'intensité perçue lors de la CPG-olfactométrie. En effet, au-delà des variations dans la perception individuelle, cela supposerait que l'intensité perçue soit proportionnelle à la concentration de la molécule dans l'air, elle-même proportionnelle à sa concentration dans le vin. Pour que cela puisse être valable, il est indispensable que la molécule soit donc située dans son domaine de perception supraliminaire (Sauvageot, 1990), et non pas, comme cela peut être le cas en CPG-O par le phénomène de concentration, dans le domaine de saturation de l'odeur. Ainsi, des composés très odorants comme l'IBMP ne présentent que très peu de variation dans leur intensité odorante, malgré des teneurs bien différentes dans les échantillons initiaux. A l'exception de cas particuliers comme celui de la ZO 2 cette discrimination ne peut être considérée que comme une hiérarchisation préliminaire devant être confirmée par l'analyse quantitative par CPG-SM, puis par l'estimation de l'impact réel du composé par des tests sensoriels.

**Tableau 29. Principales zones odorantes (groupe B) déterminées par MDCPG-O-SM/TOF.**

| ILR <sup>1D</sup> | ILR <sup>2D</sup>    | Zone odorante<br><i>Maturité-</i> | Zone odorante<br><i>Maturité+</i> | N°                  |
|-------------------|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| 1070              | 732                  | herbe coupée<br>(++)              | herbe coupée<br>(++)              | 1                   |
| 1183              | 1015                 | mentholé, frais, herbacé<br>(+++) | <i>N.D.</i>                       | 2                   |
| 1273              | 980                  | peau d'agrumes<br>(++)            | peau d'agrumes<br>(++)            | 3                   |
| 1382              | 1079                 | peau d'agrumes<br>(++)            | peau d'agrumes<br>(++)            | 4                   |
| 1430              | 1085                 | petit pois, terreux<br>(+++)      | petit pois, terreux<br>(++)       | 5                   |
| 1489              | 1143                 | terreux, végétal<br>(++++)        | terreux, végétal<br>(+++)         | 6                   |
| ~1490             | 1149                 | vert, frais<br>(+)                | vert, frais<br>(+)                | 7                   |
|                   | 1154                 | vert, frais<br>(+)                | vert, frais<br>(+)                | 8                   |
| 1510              | 1076                 | pastèque, goyave, vert<br>(++++)  | pastèque, goyave, vert<br>(++++)  | 9                   |
| 1515              | 1082                 | pastèque, goyave, vert<br>(++++)  | pastèque, goyave, vert<br>(++++)  | 10                  |
| ~1520             | 1015                 | végétal frais<br>(++)             | végétal frais<br>(++)             | 11                  |
|                   | 1069                 |                                   |                                   | 12                  |
| 1525              | 1180                 | poivron vert<br>(++++)            | poivron vert<br>(+++)             | 13                  |
| 1530              | 1138                 | carton, vert<br>(+)               | carton, vert<br>(+)               | 14                  |
| 1537              | 1090                 | feuille de géranium<br>(++++)     | feuille de géranium<br>(+++)      | 15                  |
| 1571              | 1141                 | concombre<br>(+++)                | concombre<br>(+++)                | 16                  |
| 1662              | 1187                 | épicé, vert<br>(+)                | épicé vert<br>(+)                 | 17                  |
| 1670              | 1171                 | fruité, mentholé<br>(+)           | fruité, mentholé<br>(+)           | 18                  |
| 1696              | 1090<br>1251<br>1313 | feuille de géranium<br>(++++)     | feuille de géranium<br>(+++)      | 19a<br>19 b<br>19 c |
| 1709              | 1215                 | concombre<br>(+++)                | concombre<br>(+++)                | 20                  |
| 1775              | 1202                 | camphrée, médicinale<br>(+++)     | camphrée, médicinale<br>(+++)     | 21                  |
| 1837              | 1449                 | feuille de géranium<br>(++)       | feuille de géranium<br>(++)       | 22                  |

\* ILR, indice linéaire de rétention sur BP20 (1D) et BP1 (2D) comparé avec ceux de la littérature ; IS, injection d'un standard commercial pur ; SM, spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) et comparé avec la librairie NIST. Entre parenthèses, l'évaluation de l'intensité odorante : ++++ très forte, +++ forte, ++ moyenne et + faible intensité.

## 4.1. Zones odorantes d'intérêt avec identification du composé

### 4.1.1. ZO 2 : 1,8-cinéole

La première zone odorante d'intérêt (**ZO 2**), aux odeurs fraîches et mentholées, qui évoquaient les herbes aromatiques, a focalisé toute notre attention par sa disparition complète dans l'extrait initial. Elle était la seule zone de l'extrait qui présentait un tel degré de variation dans son intensité.

La comparaison du spectre de masse de la molécule associée à cette zone odorante avec la base de données NIST a révélée que cette zone était associée à la présence du 1,8-cinéole ou eucalyptol. Son identification a été confirmée par la comparaison des indices de rétention sur deux colonnes chromatographiques (1183, 1015 ; BP20, BP1) avec ceux de la littérature et par l'injection d'un standard commercial pur.

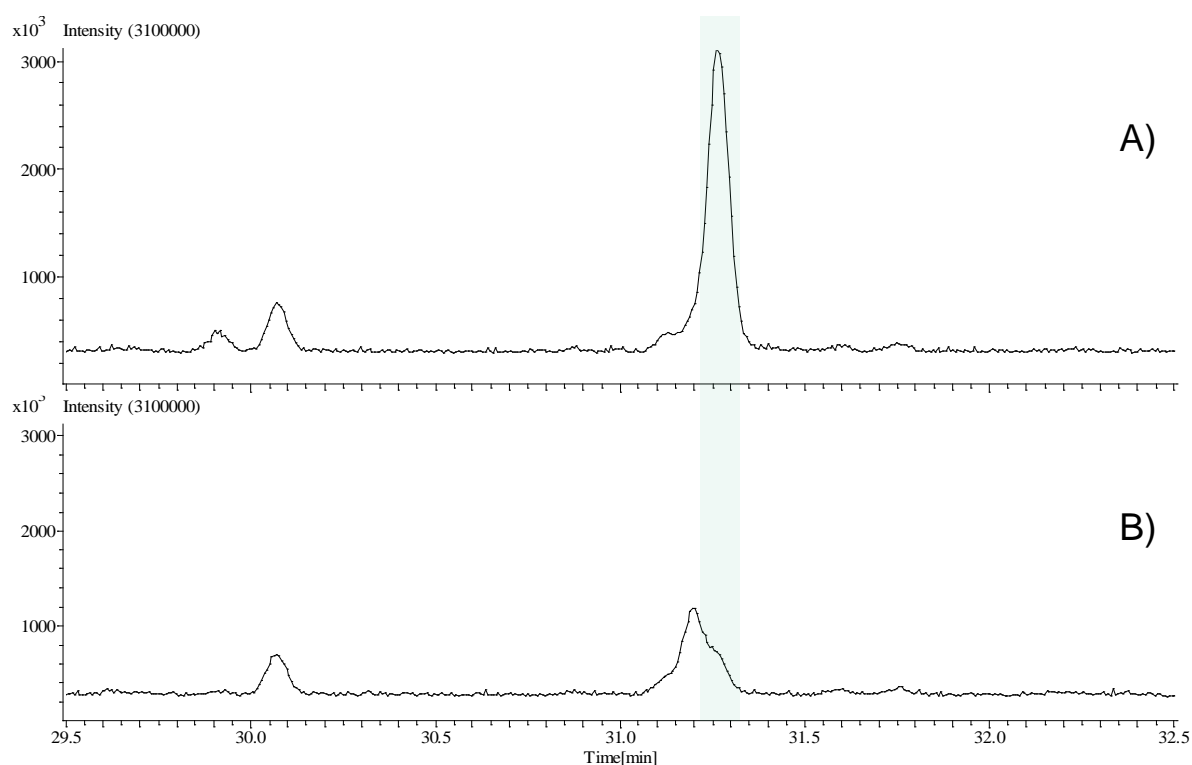


Figure 37. Portions de chromatogrammes mettant en évidence la détection du 1,8-cinéole par MDCPG-O-SM/TOF (Analyse sur colonne BP1 après coupe sur colonne BP20 - 60 s-) à partir de fractions A issues de vins de modalité *Maturité-* (A) et de modalité *Maturité+* (B)

Nous avons été surpris de constater la présence de ce composé dans les vins rouges français de Cabernet Sauvignon selon une origine variétale en lien avec la maturité des raisins. L'analyse semi-quantitative de ces deux fractions CLHP par MDCPG-O-SM/TOF confirme les observations sensorielles par la disparition quasi complète du 1,8-cinéole dans la modalité *Maturité+* par rapport à la modalité *Maturité-* (**Figure 37**). Ceci suggère alors la possibilité d'une relation étroite entre ce composé aromatique et l'état de maturité des raisins.

Nous n'avons pas détaillé plus en détail ce composé puisque, du fait de son originalité et de sa variation importante entre les deux modalités étudiées, son étude a constitué un chapitre indépendant (**chapitre 5**).

#### **4.1.2. ZO 5, 13 : IBMP et IPMP**

Deux autres zones (LRI 1430/1035 et LRI 1525/1180 sur colonne BP20 et BP1 respectivement) associées aux 3-alkyl-2-méthoxypyrazines (IPMP et IBMP) ont aussi retenues notre attention par l'intensité aromatique de leur expression végétale, de type poivron vert et cosse de pois. La différence d'intensité perçue entre les deux modalités restait minime ; la puissance aromatique de ces molécules les situant très probablement dans une gamme de saturation de l'odeur.

S'agissant de l'IPMP, malgré l'intensité de la zone odorante, aucune détection chromatographique n'a été possible, même après concentrations des extraits. Son identification a toutefois été permise par la similitude de l'odeur, la comparaison des indices linéaires de rétention expérimentaux et théoriques ainsi que par l'injection d'un standard commercial.

L'origine bien connue de l'IBMP en adéquation avec notre modèle d'étude (sous maturité des raisins de Cabernet Sauvignon) ne confère pas à sa présence un caractère inattendu. En revanche, celle de l'IPMP apparaît moins triviale et sa contribution aux nuances végétales des vins obtenus à partir de raisin de maturité insuffisante, en complément de l'IBMP, constitue une hypothèse valable malgré que nous tendions à l'exclure au vu des faibles concentrations mesurées dans le **chapitre 3**. Toutefois, les essais de quantification réalisés dans les vins initiaux de chaque modalité (*Maturité-* et *Maturité+*) ont montré que sa concentration était inférieure à la limite de détection de la méthode développée au cours du **chapitre 2** (1,1 ng/L).

Malgré la présence de cette zone odorante dans les extraits, il apparaît donc que la contribution de cette molécule à l'odeur végétale des vins reste probablement limitée par rapport à nos observations du **chapitre 3**. L'étude de l'évolution de ce composé au cours de la maturité des grappes de raisins méritait toutefois d'être approfondie. Cette hypothèse, qui envisage des similitudes avec l'IBMP dans l'évolution de ces concentrations dans le raisin au cours de la maturité, a donc été précisée dans le **chapitre 6**.

#### **4.1.3. ZO 1, 3, 4, 14, 16, 20 : alkanal, alkenals et alkadienals**

Un certain nombre de zones odorantes aux nuances végétales étaient correspondaient à des aldéhydes saturés (hexanal, octanal, nonanal), simple insaturés [(*E*)-2-nonenal] ou double insaturés [(*E,Z*)-2,6-nonadienal, (*E,E*)-2,4-nonadienal]. Bien que tous appartiennent à la famille aromatique du végétal, les tonalités de chacun de ces composés ont des nuances diverses, qui vont de l'herbe coupée ou de la punaise écrasée (hexanal), aux peaux d'agrumes (octanal, nonanal), aux notes végétales et de carton [(*E*)-2-nonenal] et jusqu'à l'odeur même du concombre [(*E,Z*)-2,6-nonadienal ; (*E,E*)-2,4-nonadienal].

Ces composés, dont l'origine provient majoritairement de l'oxydation des acides gras insaturés, sont largement répandus dans le vivant (Hui *et al.*, 2010) et se retrouvent dans un grand nombre d'aliments ou de boissons (Maarse *et al.*, 1989). Dans le vin, leur impact sur l'arôme a été suggéré depuis longtemps (Baro & Quiros, 1977). Chatonnet & Dubourdieu, (1997) ont montré que l'(*E*)-2-nonenal, dont ils estiment le seuil de détection olfactive autour de 200 ng/L dans les vins rouges, était responsable des nuances de « sciure » ou de « bois vert » dans les vins élevés en barrique neuve dès 600 ng/L. De plus, ce composé, ainsi que d'autres (*E*)-2-alkenals, augmentent avec l'oxydation des vins et contribuent à l'apparition de leurs nuances aromatiques particulières (Escudero *et al.*, 2000 ; Culleré *et al.*, 2007). Les aldéhydes saturés sont souvent détectés par CPG-Olfactométrie dans les vins rouges (Culleré *et al.*, 2004 ; Escudero *et al.*, 2007). L'octanal et le nonanal font partie des composés les plus odorants avec un seuil qui oscille autour de 1 µg/L. Culleré *et al.*, (2011) montrent qu'ils peuvent avoir un effet aromatique important sur l'arôme des vins blancs.

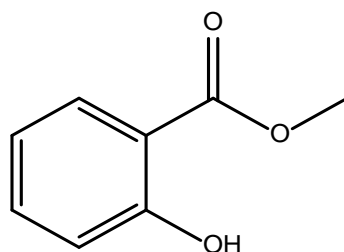
Les deux aldéhydes doublement insaturés associés aux **ZO 16** et **20** ont un seuil de détection olfactive très bas, estimé entre 1 et 10 ng/L dans la littérature. Ainsi, le (*E,Z*)-2,6-nonadienal est à l'origine des nuances « vertes » ou de « concombre » qui peuvent être perçues dans le whisky (Wanikawa *et al.*, 2002) ou dans le Cognac (Ferrari *et al.*, 2004).

Ce composé est aussi mentionné comme l'un des constituants odorants majeurs des vins de cépages hybrides du Québec (Sleger *et al.*, 2015), bien que Ferreira *et al.* (2004) n'aient pu attester de sa présence dans les vins rouges espagnols. Le (*E,E*)-2,4-nonadienal, malgré un seuil de détection olfactive dans l'eau proche du (*E,Z*)-2,6-nonadienal n'a, à ce jour, pas réellement fait l'objet de description dans les vins.

Par l'intérêt qu'ils suscitent, ces composés ont fait l'objet d'une étude spécifique, en considérant la maturité des raisins, mais aussi d'autres origines développées dans le **chapitre 9**.

#### 4.1.4. ZO 21 : salicylate de méthyle

Le composé associé à la zone odorante **21** décrite comme « camphrée, médicinale, herbacées, fraîche » a été identifié et correspond au salicylate de méthyle (**Figure 38**). Ce composé, bien connu du règne végétal, est mentionné comme l'un des constituants aromatiques majoritaires du poivron vert ou de la tomate Buttery *et al.* (1969, 1988). Sa présence dans les vins a déjà été attestée, mais sans jamais être discutée ou faire l'objet d'une étude particulière (Bordiga *et al.*, 2013). L'intérêt que présente cette zone odorante, d'un point de vue qualitatif comme quantitatif, nous a poussés à considérer ce composé d'impact olfactif dans un chapitre à part entière qui atteste d'une autre origine que celle de la maturité des raisins (**chapitre 13**).



Salicylate de méthyle  
*wintergreen, camphré, médicinal*  
40 µg/L<sup>1</sup>

**Figure 38. Structure chimique du salicylate de méthyle.** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive dans l'eau (Buttery *et al.*, 1969).



#### 4.1.5. ZO 22 : (*E*)-1-(2,3,6-triméthylphényl)buta-1,3-diene (TBP)

La première, la **ZO 22** (ILR 1837, 1449), aussi associée à une odeur de feuille de géranium correspond au (*E*)-1-(2,3,6-Triméthylphényl)buta-1,3-diene, ou TBP. La correspondance des spectres (**Figure 39**), de l'odeur et du temps de rétention sur la première dimension (ILR théorique 1832) permettent de valider cette identification.

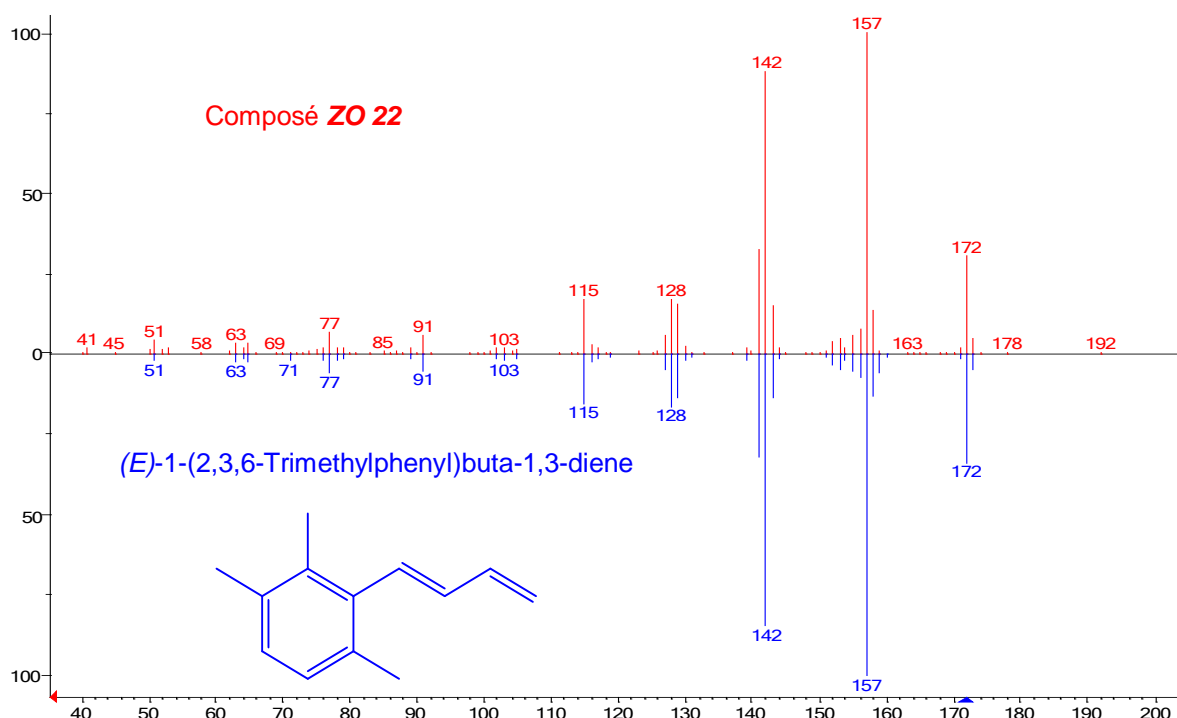


Figure 39. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 11 avec le spectre théorique du (*E*)-1-(2,3,6-Triméthylphényl)buta-1,3-diene.

Déjà mis en évidence dans la bière, le Cognac ou les rhums (Strating & Van Eerde, 1973 ; Kleipool *et al.*, 1976), ce composé aromatique a été identifié et étudié précisément dans le vin par Janusz *et al.* (2003) et Cox *et al.* (2005). C'est un composé très odorant dont le seuil de détection olfactive a été estimé à 40 ng/L dans le vin blanc (Janusz *et al.*, 2003). À faible concentration, ces auteurs notent qu'il confère des nuances florales, de géranium, de tabac, décrites comme « très verte », « insecticide » à forte concentration. Il peut être retrouvé jusqu'à 210 ng/L dans les vins blancs (Janusz *et al.*, 2003). Ce composé, initialement présent sous forme glycosylée, augmente par hydrolyse acide au cours du vieillissement dans le vin

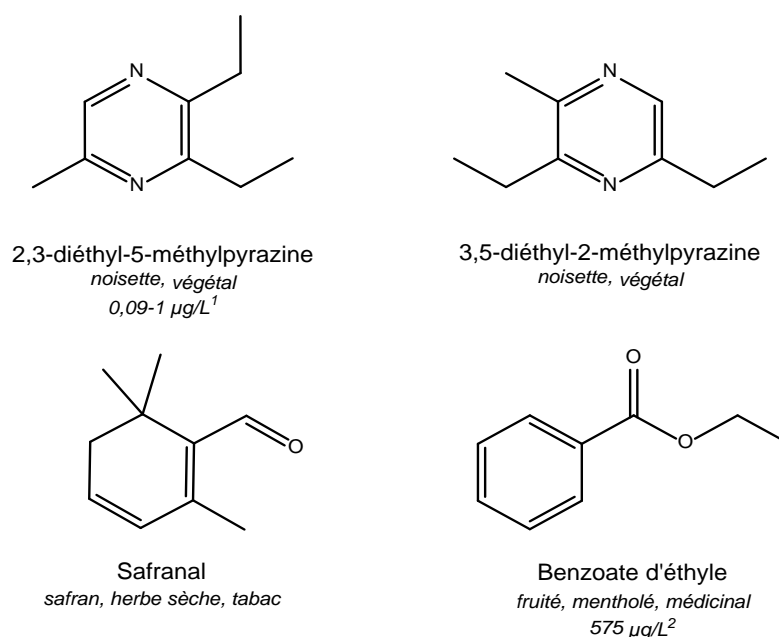
blanc, et d'autant plus lorsque celui-ci est maintenu à 45 °C. En revanche, sa présence dans les vins rouges n'a jamais été attestée. Cox *et al.* (2005) explique cela par la forte réactivité de ce composé avec les tanins des raisins ou de pépins. Ainsi, à l'inverse du vin blanc, les auteurs démontrent qu'une concentration fixée initialement à 500 ng/L dans un vin rouge décroît pour atteindre 50 ng/L après 6 mois de conservation. Malgré que nous ayons attesté de sa présence dans le vin rouge, il est très probable que les teneurs retrouvées dans les vins jeunes chutent rapidement à des niveaux de concentration très bas, limitant fortement son impact olfactif. Bien qu'il serait intéressant de suivre l'évolution de cette molécule sur des millésimes plus anciens dans lesquelles les teneurs en polyphénols tendent à s'estomper au profit de l'hydrolyse du précurseur glycosylé, nous avons décidé de ne pas explorer cette possible voie de formation de nuances végétales et, ainsi, n'avons pas considéré ce composé dans la suite de notre étude.

#### **4.1.6. ZO 7, 8, 17, 18 : 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine, 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine, safranal, benzoate d'éthyle**

Enfin, un certain nombre de composés associés à des zones odorantes de faible intensité ont pu être identifiés. C'est le cas de deux pyrazines, la 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine (**ZO 7**) et la 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine (*tentative*) (**ZO 8**). L'identification a été réalisée par comparaison des spectres de masse et des temps de rétention sur les deux colonnes (BP20, BP1). Bien que nous les décrivions avec des notes végétales, ces molécules rappellent plutôt des odeurs de « noisettes » d'aliments grillés ou torréfiés (Kwon *et al.*, 2013) comme le café (Czerny *et al.*, 1996) ou la viande grillée (Cerny & Grosch, 1993). Solina *et al.* (2005) mentionnent toutefois que leur odeur grillée devient « verte » à faible concentration. Burdock (2002) précise aussi la caractéristique « noisette », « grillée » et « végétal » de la 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine avec son seuil de détection olfactive dans l'eau de 0,090 à 1 µg/L. Toutefois, les tests d'addition de la 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine que nous avons réalisés dans un vin rouge ont montré qu'elle a un impact très limité dans des plages de concentration allant jusqu'à 10 µg/L, avec une odeur qui ne correspond pas exactement au registre végétal (résultat non communiqué). L'intensité odorante légèrement inférieure de la zone associée à la 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine nous laisse envisager un impact tout aussi limité. Ainsi, malgré que la présence de ces pyrazines n'ait pas été, à notre connaissance, attestée dans le vin, nous les avons négligées dans la suite de notre étude.

Une autre zone odorante (**ZO 17**) est associée au 2,6,6-triméthyl-1,3-cyclohexadiène-1-carboxaldehyde ou safranal (**Figure 40**). Ce composé présente une odeur prononcée de safran et d'herbe sèche ou de tabac. Comme son nom l'indique, il est le constituant majoritaire du safran puisqu'il représente 72 % de sa fraction volatile (Alonso *et al.*, 1996) et il est en grande partie responsable de son odeur (Amanpour *et al.*, 2015). Peu d'informations sont disponibles dans la littérature quant à son seuil de détection olfactive. De même, sa présence dans les vins rouges australiens a été signalée par Robinson *et al.* (2011b) lors d'une analyse en CPG intégrale, mais sans être discutée. Le seuil de détection olfactive du safranal a été réalisé dans le vin rouge par le *panel 9* selon 5 modalités : 0,2/0,4/0,8/1,6/3,2 µg/L. L'estimation de celui-ci par la méthode BET montre un seuil autour de 3 µg/L. Quoiqu'il en soit, ce composé est inférieur aux teneurs maximales mesurées dans les vins rouges (0,7 µg/L environ) et, de même, aucun lien avec la maturité n'a pu être établi (résultats non communiqués). Il n'a donc pas été considéré pour la suite de l'étude.

Enfin, le benzoate d'éthyle à l'odeur fruitée, mentholée et médicinale est responsable de la **ZO 18**. Ce composé présente un seuil de détection olfactive dans le vin rouge très élevé (575 µg/L) au regard de ses concentrations moyennes (0,5 µg/L) (Ferreira *et al.*, 2000b). De plus, les tests de quantification réalisés ne montrent aucun lien particulier avec la maturité des raisins (résultats non communiqués) ; ainsi, nous avons également écarté ce composé.



**Figure 40. Structure chimique de la 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine et 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine, du safranal et du benzoate d'éthyle.** <sup>1</sup> Seuil de détection olfactive dans l'eau (Burdock *et al.*, 2002) ; <sup>2</sup> Seuil de détection olfactive dans le vin rouge (Ferreira *et al.*, 2000b).

## 4.2. Zones odorantes d'intérêt avec identification partielle (tentative) ou absence d'identification du composé

Dans les concentrations initiales obtenues à partir d'un volume de 750 mL de vin, aucun pic chromatographique n'était détectable pour chacune de ces zones odorantes. Ainsi, les résultats présentés sont obtenus en répétant 5 fois la démarche d'extraction et de fractionnement, ce qui correspond au final, à un volume de 4,5 L de vin. Le volume de l'extrait a aussi été concentré au double, soit 50  $\mu$ L.

L'extrême concentration des extraits et le nombre d'étapes nécessaires à leur obtention font perdre toute répétabilité qui permet la comparaison semi-quantitative des deux modalités ; ainsi, cette approche n'a été effectuée que sur le vin *Maturité-* avec un unique objectif d'identification des composés associés aux zones odorantes d'intérêts.

### 4.2.1. ZO 6 : « terreux, végétal »

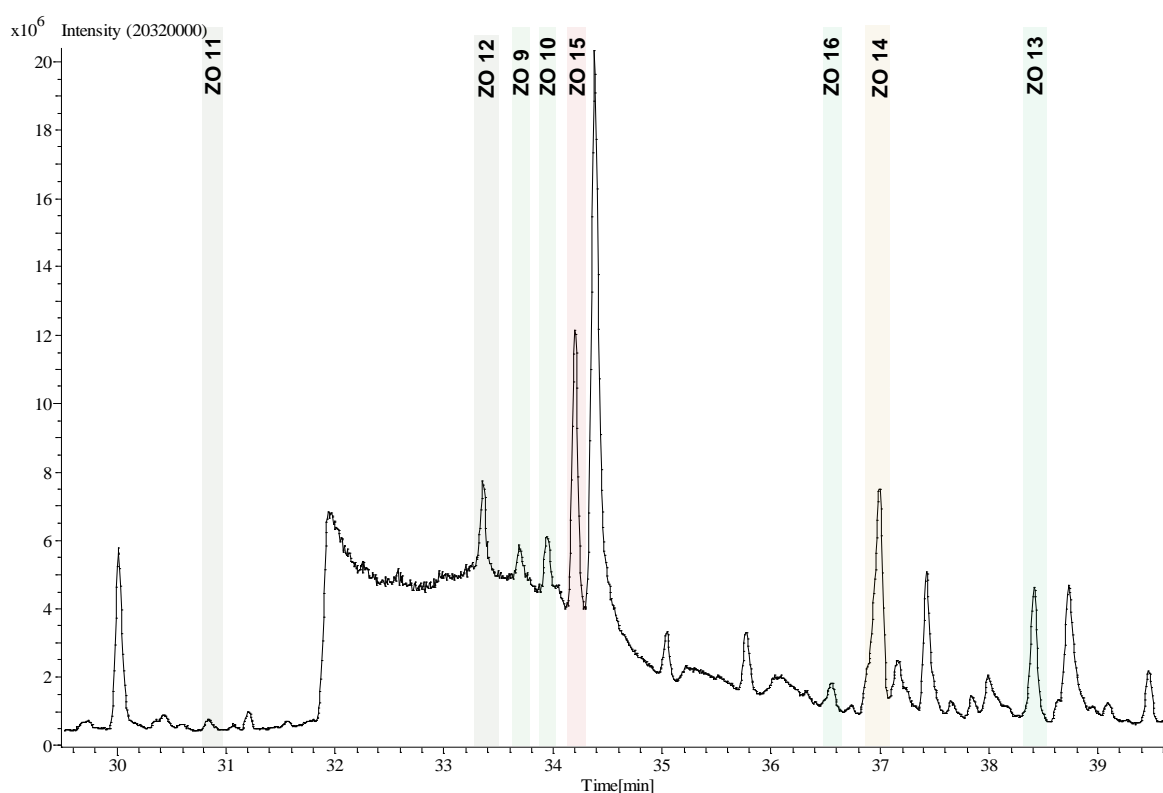
Bien que l'odeur de la zone odorante **6** ne soit pas intégralement végétale puisqu'elle possède aussi des caractéristiques terreuses rappelant la cave, nous avons toutefois jugé important de la considérer ; d'une part par son pouvoir odorant et d'autre part par le fait que des composés comme les méthoxypyrazines peuvent aussi présenter cette double caractéristique aromatique « terreuse et végétale » (**Etude bibliographique, § 1.3.1**) et conférer, pour autant, des odeurs végétales aux vins. Ce phénomène a été observé avec la DMMP ou 3-méthoxy-2,5-diméthylpyrazine Botezatu *et al.*, 2012b.

La concentration des extraits et l'utilisation de la MDCPG-O-SM a conduit à l'obtention d'un pic chromatographique résolu. Malgré la soustraction du bruit de fond, le spectre de masse obtenu présente quelques impuretés ; il reste cependant interprétable par les ions principaux de la molécule qui se dégagent assez nettement (**Annexe V**). Cependant, aucune correspondance particulière entre celui-ci et la bibliothèque NIST n'a pu être établie. De même, aucune hypothèse particulière n'a pu être formulée par des recherches bibliographiques se basant sur les ILR et les ions caractéristiques.

#### 4.2.2. ZO 9 à ZO 16

Plusieurs zones odorantes d'importance ont été considérées par un « heart-cut » commun (2 minutes environ) du fait de la proximité de leur élution sur la première dimension, dont la plage est comprise entre les ILR 1505 et 1571. Cette plage constitue une large zone odorante végétale comprenant plusieurs nuances de forte intensité. Dans l'ensemble, elles sont centrées autour de l'IBMP (ILR 1525, 1542) sur colonne polaire de type BP20 ou Carbowax.

La MDCPG-O-SM a assuré une très bonne séparation entre ces différentes zones odorantes sur la seconde dimension. La concentration de l'extrait organique a également permis d'obtenir des pics chromatographiques qui, malgré leurs faibles intensités, possèdent une bonne résolution et se démarquent suffisamment du bruit de fond pour permettre l'obtention d'un spectre de masse par impact électronique à 70 eV (**Figure 41**). Bien qu'il soit globalement respecté, l'ordre d'élution entre la première dimension et la seconde est modifié. Ceci s'explique par les interactions entre les composés organiques et la colonne capillaire qui diffèrent en fonction de la nature de la phase utilisée.



**Figure 41.** Portion du chromatogramme obtenue après séparation des zones odorantes 9-16 sur la colonne BP1 par CPG multidimensionnelle (BP20 ; BP1) couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse à temps de vols (SM/TOF).

#### 4.2.2.1. ZO 11 et 12 : « vert, frais »

Les deux zones odorantes, **ZO 11** et **ZO 12**, correspondent à des zones d'intensité moyenne à forte dont l'odeur intègre la sous-catégorie du végétal frais. Elles évoquent des nuances d'herbe et de tige coupée avec, pour la première (**ZO 11**) une dimension aromatique plus fraîche. Malgré la faible intensité de leurs pics chromatographiques, les spectres obtenus révèlent nettement les principaux ions des molécules associées (**Annexe VI**). Toutefois, aucune correspondance particulière n'a pu être obtenue par comparaison avec la bibliothèque spectrale (NIST). Nous notons simplement que, malgré leurs similitudes d'odeurs et leur temps de rétention proche, ces deux composés présentent des spectres de masse différents ; ce qui tend à exclure l'hypothèse de stéréoisomères.

#### 4.2.2.2. ZO 9 et ZO 10 : « pastèque, goyave, vert »

À l'inverse des zones odorantes précédentes, les composés associés aux **ZO 9** et **10**, pour lesquelles les odeurs sont qualitativement et quantitativement similaires, ont un spectre de masse identique. Leur temps de rétention très proche laisse supposer, cette fois, l'existence de deux stéréoisomères. La comparaison du spectre de masse de ces composés avec le spectre de masse théorique du (Z,Z)-3,6-nonadienal montre un très bon niveau de correspondance (**Figure 42**). De même, les informations dont nous disposons sur les ILR du (Z,Z)-3,6-nonadienal (Acree *et al.*, 1997 ; Delort *et al.* 2012 ;) avec des colonnes du même type appuient cette identification : ILR théorique 1520/1074-1083 ; ILR expérimentaux 1510/1076 (**ZO 9**) et 1515/1082 (**ZO 10**) sur BP20 et BP1 respectivement. De plus, la correspondance entre l'odeur de ces zones que nous décrivons comme végétales et qui évoquent la pastèque, le fruit vert, la goyave est totalement en accord avec les termes utilisés par plusieurs auteurs pour décrire (Z,Z)-3,6-nonadienal : « pastèque, frais » (Hammer & Schieberle, 2013), « pastèque » (Yajima *et al.*, 1985), « melon, concombre, pastèque, gras » (Delort *et al.*, 2012) ou « vert » (Milo & Grosch; 1993).

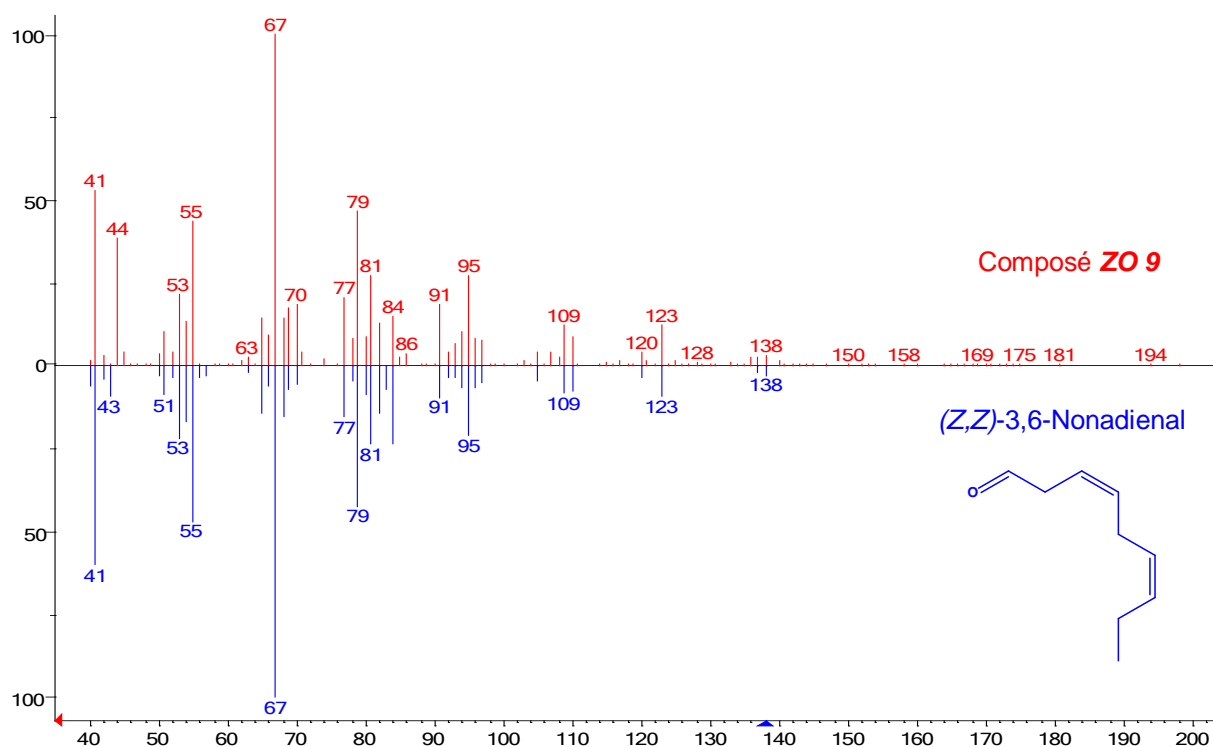


Figure 42. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 9 avec le spectre théorique du (Z,Z)-3,6-nonadienal.

Toutes ces correspondances permettent de proposer le (Z,Z)-3,6-nonadienal comme le composé de l'une des deux zones odorantes et de formuler l'hypothèse de l'existence d'un stéréoisomère pour l'autre. Avec les données que nous possédons, il est difficile de savoir précisément si le (Z,Z)-3,6-nonadienal est imputable à la zone odorante **9** ou **10**, de même qu'il n'est pas possible de conclure quant à la conformation exacte du stéréoisomère suspecté pour l'autre zone. Pour être totale, l'identification devra donc être réalisée par injection des produits synthétisés; ceci constitue l'une des perspectives de cette étude.

Ajoutons que le (Z,Z)-3,6-nonadienal n'a pas été, à notre connaissance, identifié dans les vins. De même, relativement peu d'études le mentionnent, et aucune ne fait part de l'existence possible d'un diastérisomère. Au-delà, de son odeur végétale très prononcée, il présente un intérêt certain par son pouvoir odorant. Bien que peu d'informations soient disponibles sur le seuil par voie orthonasale de ce composé dans l'eau, il apparaît tout aussi odorant que les autres composés insaturés, et particulièrement le (E,Z)-2,6-nonadienal. Grosch *et al.*, (1993) le détermine dans l'eau par voie orthonasale à 50 ng/L, soit dans le même ordre de grandeur que le (E,E)-2,4-nonadienal (60 ng/L) dont le seuil par voie orthonasale a été estimé à 1,7 ng/L.

Cette forte capacité odorante nous a été confirmée par Frérot (communication personnelle) qui a développé une méthode de synthèse de ce composé (Frérot & Bagnoud, 2011). De plus, dans les études où il est évoqué, il est toujours responsable d'une part importante de l'odeur ; par exemple celle du concombre où il est mentionné pour la première fois, mais non identifié formellement (Kemp *et al.*, 1974), de la pastèque (Yajima *et al.*, 1985), de l'herbe à huitre ou *Martensia maritima* (L.) Gray (Delort *et al.*, 2012), mais aussi de la truite ayant subi une période de stockage prolongée (*Salmo Fario*) (Milo *et al.*, 1993).

Le (Z,Z)-3,6-nonadienal est en fait un produit de dégradation de l'acide linoléique (**Etude bibliographique, § 1.3.2, Figure 6**) comme cela a été reporté dans le concombre par Hatanaka *et al.*, (1975). Il est le précurseur du (Z,Z)-3,6-nonadienol, mais aussi du (E,Z)-2,6-nonadienal. C'est un composé qui conserve une réactivité importante et peut subir des réactions d'oxydation, d'isomérisations ou des polymérisations (Delort *et al.*, 2012). Malgré tout, il pourrait être, par son faible seuil de détection olfactive, l'un des contributeurs aux nuances végétales des vins. La forte intensité perçue des zones odorantes dans chacune des modalités (*Maturité-* et *Maturité+*) reflète que la perception se situe certainement dans la zone de saturation ; ainsi, il est impossible de formuler une hypothèse quant à son lien avec la sous-maturité des raisins. La synthèse organique du composé apparaît dès lors nécessaire afin de pouvoir apporter de plus amples éléments de réponse sur ces points précis.

#### 4.2.2.3. ZO 15 : « feuille de géranium »

Cette zone odorante (ILR 1537/1090 sur colonne BP20 et BP1 respectivement) présente une puissante odeur de feuille de géranium. Là encore, l'intensité de celle-ci suppose que le composé associé présente un seuil de détection olfactive relativement bas dans l'air, et peut être aussi dans le vin. Le pic chromatographique étant bien résolu avec une bonne intensité, nous avons pu obtenir un spectre de masse net et interprétable (**Annexe VII**). La comparaison de ce spectre de masse avec les bases de données suggère plusieurs formules de composés non commerciaux et pour la plupart jamais identifiés dans des matrices naturelles.



#### 4.2.3. ZO 19 : « feuille de géranium »

L'analyse de la seconde zone odorante (**ZO 19**) à l'odeur de feuille de géranium perçue sur la première dimension (ILR 1696) apporte des compléments d'informations quant à la **ZO 15**. En effet, l'utilisation de la CPG multidimensionnelle a indiqué que cette zone n'était pas associée à un unique composé mais résultait de la perception simultanée de trois zones odorantes (**ZO19a**, **ZO19b**, **ZO19c**) possédant les mêmes caractéristiques aromatiques (**Annexe VII**).

La première zone identifiée sur la seconde dimension **ZO19a** (ILR 1090) correspond au même indice de rétention que la **ZO15** et possède, de plus, le même spectre de masse (**Annexe VI**). Ceci signifie que le composé inconnu associé à la **ZO15** existe sous deux formes qui sont séparées sur la première dimension (BP20) et ne le sont pas sur la seconde (BP1). L'écart important entre les indices de rétention sur la première dimension (ILR 1537/1696) nous encourage à considérer un équilibre céto-énolique (tautomérie) plutôt que l'existence de diastérisomères. Ce phénomène a été montré dans le vin sur la 3-méthyl-2,4-nonanedione (Pons *et al.*, 2008). Cette information n'est cependant pas suffisante pour conclure quant à la structure de cette molécule.

Le spectre du composé associé à la **ZO 19b** (ILR 1251) est plus difficilement interprétable puisque, en plus de la faible intensité du pic chromatographique, la ionisation électronique fragmente la molécule en un nombre important d'ions ( $m/z$  164, 149, 131, 121, 107, 91, 81, 77, 53) dont l'intensité individuelle se trouve donc diminuée et les positionne ainsi près du bruit de fond spectral.

A l'inverse, le pic chromatographique du composé associé à la **ZO 19c** (ILR 1313) a un bon niveau d'intensité et possède seulement 4 ions majoritaires (158, 143, 128, 115), ce qui permet d'obtenir un spectre de masse bien défini et interprétable (**Annexe VIII**). La comparaison du spectre de masse avec la base de donnée NIST ne propose pas de structure chimique correspondante. L'analyse suggère que la structure chimique du composé diffère significativement des **ZO 19a** (ou **ZO 15**) et **ZO 19b** et que celui-ci appartient plutôt à la famille des hydrocarbures avec un cycle aromatique, proche du (*E*)-1-(2,3,6-Triméthylphényl)buta-1,3-diene (TBP) associé à la **ZO 22** (**Figure 43**). Cependant, la seule information supplémentaire dont nous disposons sur ce composé théorique est un indice fourni par la bibliothèque NIST sur colonne apolaire (sans en préciser le type) de 1284.

Seule la synthèse organique de cette molécule et de ces analogues structuraux permettra d'envisager d'identification.

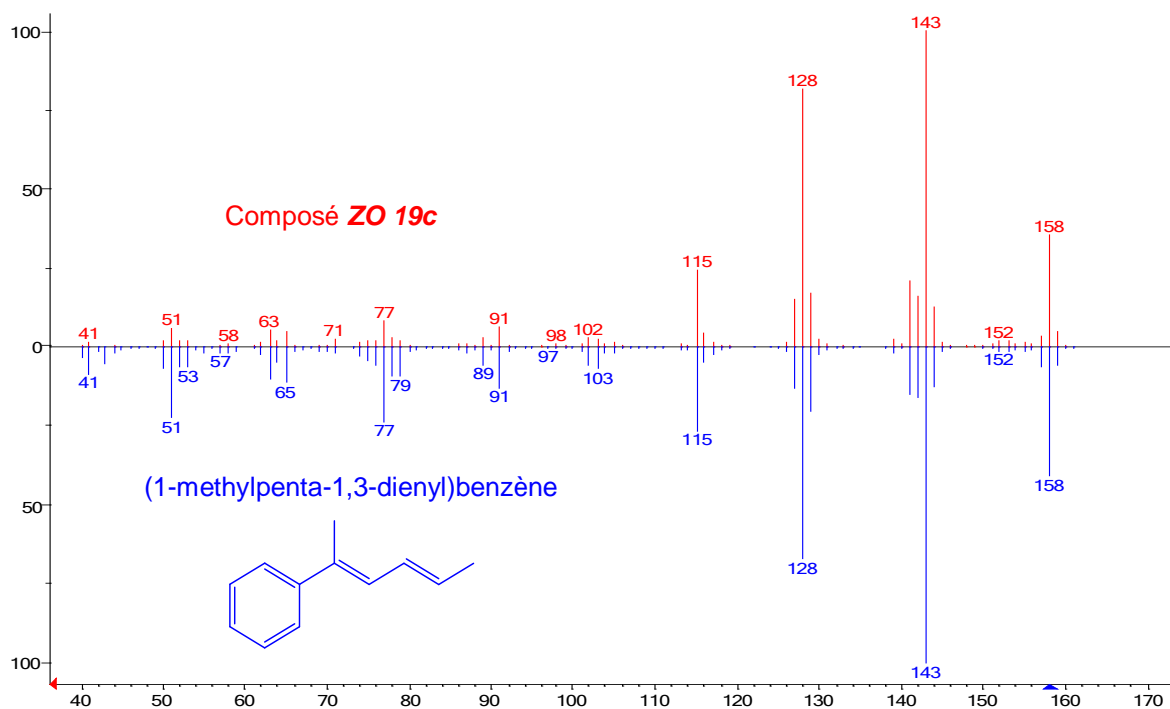


Figure 43. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 19c avec le spectre théorique du (1-méthylpenta-1,3-dienyl)benzène

Aucun des composés associés aux zones odorantes de feuille de géranium (**ZO 15**, **ZO 19**) n'a donc pu, à ce jour, être formellement identifié. Très peu d'informations sont disponibles dans la littérature quant aux composés suspectés de correspondre aux zones odorantes que nous avons mis en lumière. Dans les études qui caractérisent les huiles essentielles de différentes espèces du genre *Geranium* et *Pelargonium*, aucun des composés qui les constituent ne correspond à ceux que nous avons mentionnés (Kulkarni *et al.*, 1998, Jain *et al.*, 2001 ; Jalali-Heravi *et al.*, 2006 ; Radulović *et al.*, 2013).

De plus, bien que ces zones odorantes à l'odeur de feuille de géranium semblent légèrement atténuées dans la modalité *Maturité+* par rapport à la modalité *Maturié-*, leur forte intensité ne permet pas d'affirmer que les niveaux de concentration soient réellement différents et que ces composés aient un lien direct avec la maturité des raisins.

Toutefois, l'intensité perçue et la présence des composés qui leur sont associés à de très faibles concentrations laissent supposer que ces molécules possèdent un seuil de détection olfactive très bas. Ainsi, elles pourraient contribuer à accroître les tonalités végétales des vins par une augmentation, même minime, de leur concentration. Leur identification constitue donc l'une des perspectives majeures de cette étude. Elle devra être mise en œuvre, notamment, par la détermination des formules brutes en s'appuyant sur la précision de mesure de l'analyseur à temps-de-vol et un mode d'ionisation chimique.

## 5. CONCLUSION

A partir du modèle d'étude de vins expérimentaux de Cabernet Sauvignon, présentant des tonalités aromatiques contrastées en lien avec le stade de maturité des raisins, le fractionnement initial par CHPL des extraits a permis d'isoler les fractions aromatiques porteuses de cette expression. En définitive, elle apparaît comme étant pratiquement exclusive à deux des 50 fractions dont l'impact sur l'arôme global est majeur.

Malgré la simplification de l'extrait procurée par le fractionnement, la caractérisation des fractions d'intérêt par CPG multidimensionnelle couplée à l'olfactométrie a révélée un nombre conséquent de zones odorantes, dont une vingtaine présentant des caractéristiques végétales. Les composés associés à une proportion significative d'entre elles ont pu être identifiés (**Tableau 30**).

Parmi ces composés, la présence du 1,8-cinéole (eucalyptol) a pu être attestée selon une origine variétale avec, de plus, un facteur de variation qui semble en lien avec la maturité des raisins. D'autres ont pu être associés à des aldéhydes au fort pouvoir odorant tels que le (*E,Z*)-2,6-nonadienal, (*E,E*)-2,4-nonadienal, et même le (*Z,Z*)-3,6-nonadienal (*tentative*), dont l'étude est approfondie dans la deuxième partie du mémoire. A ce jour, un certain nombre de composé d'intérêt restent encore non identifiés. La saturation olfactive qu'ils entraînent ne permet pas de préciser la relation exacte de ceux-ci avec la maturité des baies. Toutefois, le pouvoir olfactif qu'ils révèlent par CPG olfactométrie fait de leur identification l'une des priorités en ce qui concerne les perspectives de ce travail. Par conséquent, si la présence de l'IBMP dans les fractions d'intérêts exprime une réalité bien connue de l'expression végétale des vins de Cabernet Sauvignon obtenue avec des raisins de maturité insuffisante, ce chapitre révèle aussi

que cette expression ne se réduit pas à une simple concentration en ce composé. Nos conclusions rejoignent ainsi les observations de plusieurs auteurs (Preston et al., 2008 ; Scheiner et al., 2011) mais également nos propres conclusions quant à l'étude des corrélations de l'IBMP avec le caractère végétal des vins (**chapitre 3**). L'hypothèse déjà formulée d'une contribution d'autres molécules, seules, ou en complément de l'IBMP dans le cas d'une faible maturité des raisins de Cabernet-Sauvignon, est donc largement appuyée par ce chapitre. Il semble aussi probable que l'équilibre des concentrations entre ces composés puisse être à l'origine des différentes nuances de la famille aromatique du végétal telle qu'elle a été définie dans le **chapitre 1**.

**Tableau 30. Molécules odorantes identifiées dans les fractions 35 et 36 (groupe B) susceptibles d'être associées à l'expression aromatique végétale des vins rouges.**

| Molécule                                    | Identification | Description olfactive    | Seuil de détection          | N° (ZO) |
|---|----------------|--------------------------|-----------------------------|---------|
| hexanal                                     | ILR, SM        | herbe coupée             | 4,5-5 µg/L <sup>(1)</sup>   | 1       |
| 1,8-cineole                                 | ILR, SM, IS    | mentholé, frais, herbacé | 1,1 µg/L <sup>(7)</sup>     | 2       |
| octanal                                     | ILR, SM        | peau d'agrumes           | 0,7 µg/L <sup>(1)</sup>     | 3       |
| nonanal                                     | ILR, SM        | peau d'agrumes           | 1 µg/L <sup>(1)</sup>       | 4       |
| IPMP  | ILR, IS        | petit pois, terreux      | 1-2 ng/L <sup>(6)</sup>     | 5       |
| 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine                | ILR, SM        | vert, frais              | 0,9-1 µg/L <sup>(5)</sup>   | 7       |
| 3,5-diéthyl-2-méthylpyrazine <sup>(t)</sup> | ILR, SM        | vert, frais              | -                           | 8       |
| (Z,Z)-3,6-nonadienal <sup>(t)</sup>         | ILR, SM        | pastèque, goyave, vert   | -                           | 9       |
| IBMP  | ILR, SM, IS    | poivron vert             | 15 ng/L <sup>(8)</sup>      | 13      |
| (E)-2-nonenal                               | ILR, SM, IS    | carton, vert             | 1 µg/L <sup>(1)</sup>       | 14      |
| (E,Z)-2,6-nonadienal                        | ILR, SM, IS    | concombre                | 1,8-2,2 ng/L <sup>(3)</sup> | 16      |
| safranal                                    | ILR, SM, IS    | épicé, vert              | 3 µg/L <sup>(10)</sup>      | 17      |
| benzoate d'éthyle                           | ILR, SM        | fruité, mentholé         | 575 µg/L <sup>(9)</sup>     | 18      |
| (E,E)-2,4-nonadienal                        | ILR, SM, IS    | concombre                | 1,7 ng/L <sup>(2)</sup>     | 20      |
| salicylate de méthyle                       | ILR, SM, IS    | camphrée, médicinale     | 40 µg/L <sup>(4)</sup>      | 21      |
| TBP   | ILR, SM, IS    | feuille de géranium      | 40 ng/L <sup>(9)</sup>      | 22      |

\* ILR, indice linéaire de rétention sur BP20 (<sup>1</sup>D) et BP1 (<sup>2</sup>D) comparé avec ceux de la littérature ; IS, injection d'un standard commercial pur ; SM, spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) et comparé avec la librairie NIST. Seuil de détection olfactive dans l'eau : <sup>1</sup> Buttery & Ling (1998) ; <sup>2</sup> Jensen et al. (1999) ; <sup>3</sup> Burlingame et al. (1992) ; <sup>4</sup> Buttery et al., (1969) ; <sup>5</sup> Burdock et al., (2002) ; <sup>6</sup> Murray et al., (1970). Seuil de détection olfactive dans le vin rouge : <sup>7</sup> Hervé et al., (2003) ; <sup>8</sup> Roujou de Boubée, (2000). Seuil de détection olfactive dans le vin blanc : <sup>9</sup> Janusz et al., 2003. <sup>10</sup> Détermination expérimentale. <sup>(t)</sup> Tentative.

# **Chapitre 5. Étude du 1,8-cinéole dans les vins rouges selon une origine variétale**

## **1. INTRODUCTION**

Ainsi que nous l'avons mentionné (**Etude bibliographique, § 1.3.3**), l'origine du 1,8-cinéole dans les vins a fait l'objet de récentes études (Capone *et al.* 2011, 2012). Les auteurs ont observé que sa présence dans les vins australiens était associée à la proximité d'eucalyptus dans l'environnement immédiat des vignobles. Ils ont aussi établi que l'incorporation de feuilles d'eucalyptus et le transfert aérien sur les grappes et les feuilles de vigne étaient corrélés aux concentrations en eucalyptol dans les vins, rejoignant ainsi les hypothèses d'Hervé *et al.* (2003) quant à une origine exogène du 1,8-cinéole dans les vins californiens.

L'origine variétale du 1,8-cinéole est aussi suggérée par plusieurs auteurs, mais avec des tendances inversées par rapport à la maturité des raisins. Kalua *et al.* (2009) notent, en effet, une rapide disparition de ce composé au cours du développement de la baie (7 semaines après la floraison) tandis que Farina *et al.* (2005) mentionnent une augmentation notable de celui-ci après la véraison. La présence d'eucalyptus à proximité des vignobles dans lesquels se sont déroulées ces études constitue une source potentielle d'artefact.

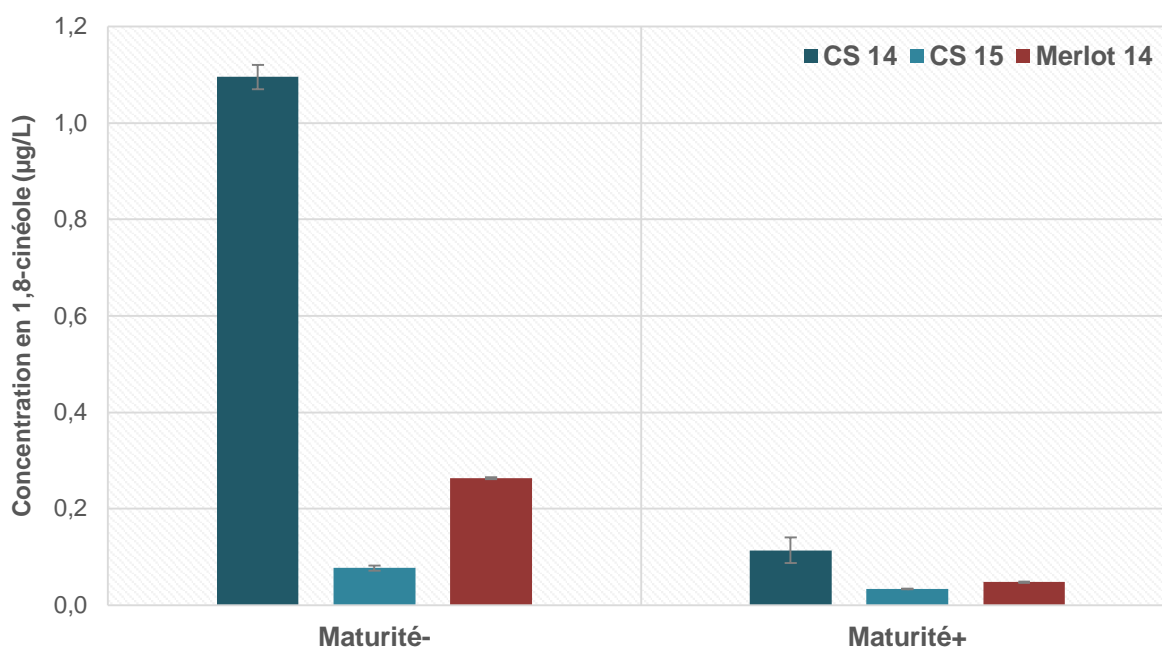
L'analyse par CPG couplée à l'olfactométrie a révélé, dans le précédent chapitre, la présence de 1,8-cinéole dans une fraction de CLHP de vin de Cabernet Sauvignon bordelais (**chapitre 4**). Cette observation nous a conduits à envisager une origine variétale de ce composé dans les vins de Cabernet-Sauvignon provenant de régions dans laquelle les eucalyptus ne font pas partie de l'environnement naturel des vignobles. De plus, notre approche a pu mettre en évidence une variation importante entre les deux modalités (*Maturité-* et *Maturité+*) des vins de Cabernet Sauvignon du millésime 2014 ; suggérant ainsi que ce composé pourrait être un marqueur aromatique d'un manque de maturité des raisins.

Aussi, ce chapitre avait pour objectif de confirmer un niveau d'abondance plus important dans les vins issus de raisins récoltés à moindre maturité, mais également de caractériser l'impact sensoriel du 1,8-cinéole dans les vins rouges français par l'estimation de ses teneurs, tout en considérant certains paramètres du terroir (climat ou type de sol).

## 2. ANALYSE QUANTITATIVE DU 1,8-CINEOLE DANS LES VINS ROUGES

### 2.1. Dosage du 1,8-cinéole dans les modèles d'étude de la maturité des raisins

Afin de préciser la cinétique d'évolution du 1,8-cinéole avec la maturité des raisins, observée par CPG-olfactométrie et analyse semi-quantitative à partir de l'extrait du vin de Cabernet Sauvignon de 2014, une quantification a été réalisée sur les différents vins expérimentaux établis au **chapitre 4**.



**Figure 44.** Concentrations (µg/L) en 1,8-cinéole mesurées dans les modalités *Maturité-* et *Maturité+* des vins de Cabernet Sauvignon du millésime 2014 (CS14), 2015 (CS15) et des vins de Merlot du millésime 2014 (Merlot 14).

La diminution significative des teneurs en 1,8-cineole (> 90 %) est ainsi observée durant le dernier mois de maturation des raisins en 2014 (**Figure 44**). Le niveau initial ( $1,10 \pm 0,025 \mu\text{g/L}$ ) décroît pour atteindre la valeur de  $0,11 \pm 0,026 \mu\text{g/L}$ .

Une décroissance similaire est observée dans les autres échantillons : 57 % de diminution dans les raisins de Cabernet Sauvignon du millésime 2015 et 82 % dans ceux de Merlot en 2014. Si la tendance est identique, les niveaux de concentration restent cependant nettement inférieurs dans les vins de Merlot. De même, ils sont approximativement 10 fois plus faibles dans les Cabernet Sauvignon du millésime 2015 que dans ceux du millésime 2014.

De plus, la diminution du 1,8-cinéole dans les vins de Cabernet Sauvignon suit celle de l'IBMP qui évolue de manière similaire entre les deux modalités *Maturité-* et *Maturité+* sur les deux millésimes :  $44,8 \pm 2,7$  et  $8,2 \pm 0,1$  ng/L (millésime 2014) ;  $3,3 \pm 0,1$  et  $1,8 \pm 0,2$  ng/L (millésime 2015) respectivement.

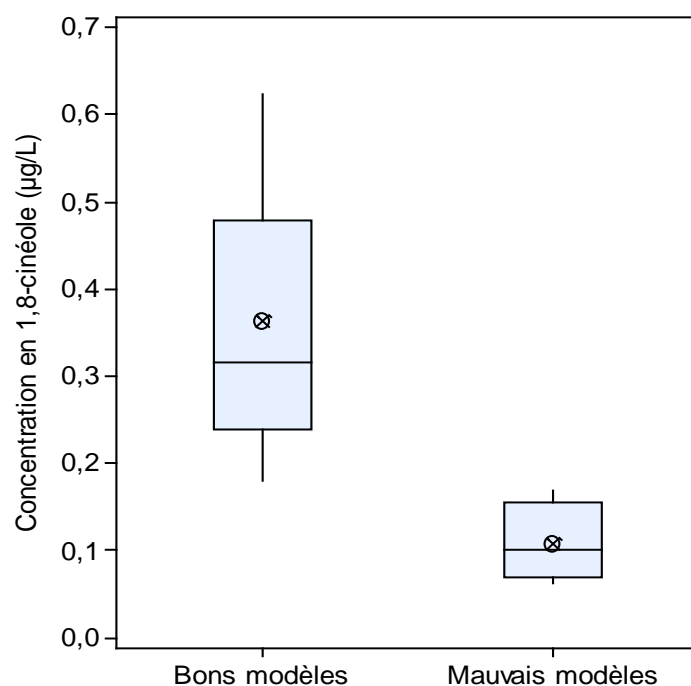
L'analyse de ces différents vins expérimentaux confirme ainsi la relation entre le 1,8-cinéole et la maturité des raisins ; elle le positionne alors comme un potentiel marqueur aromatique de la maturité des vins.

## **2.2. Teneurs en 1,8-cinéole dans les « bons » et les « mauvais modèles » de la famille aromatique du végétal**

Afin de confirmer nos hypothèses sur l'origine des nuances végétales des « bons modèles » (**chapitre 3**), dont une partie est suspectée d'avoir un lien avec la maturité des raisins, le 1,8-cinéole a été quantifié dans ces vins, mais également dans les « mauvais modèles ». La distribution des concentrations a été représentée sous forme de boîte de Tukey (**Figure 45**).

Les analyses révèlent que les concentrations en 1,8-cinéole sont significativement différentes entre les deux groupes de vins. De plus, il existe une nette césure entre ces vins puisqu'il n'y a pas de chevauchement dans leur distribution. Ainsi, le niveau de corrélation (test de Spearman) avec la note de représentativité à la famille aromatique du végétal est très significative ( $p\text{-valeur} < 0,001$ ).

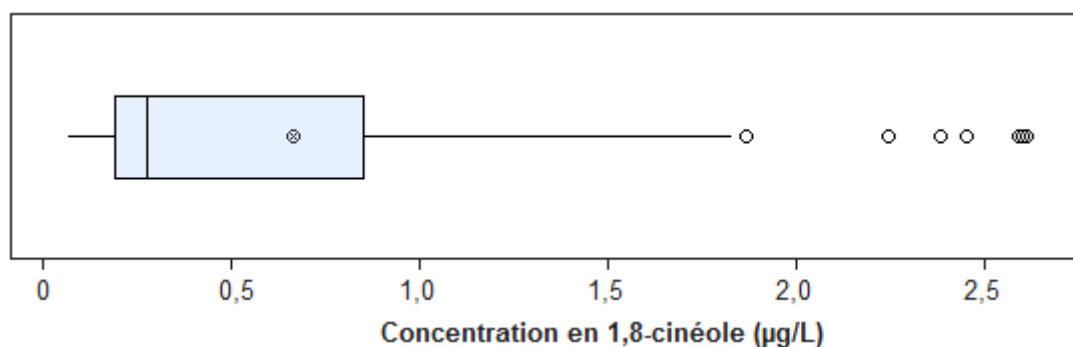
Le 1,8-cinéole apparaît donc comme un bon marqueur apte à refléter un état aromatique qualifié de « végétal ». L'estimation de son l'impact sensoriel réalisé par la suite (§ 3) devait permettre de connaître dans quelles mesures il en est un simple marqueur chimique ou un contributeur odorant.



**Figure 45.** Distribution des teneurs en 1,8-cinéole ( $\mu\text{g/L}$ ) dans les vins appartenant à la catégorie des « bons » ( $n=10$ ) et des « mauvais modèles » ( $n=10$ ) établis au chapitre 3. Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey. Le vin Marcillac 2011 (« bon modèle ») contenant  $2,5 \mu\text{g/L}$  a été exclu à cause de sa valeur extrême qui aplanit la représentation.

### 2.3. Dosage du 1,8-cinéole dans les vins rouges français

La quantification du 1,8-cinéole a été étendue à un plus large échantillonnage de vins français (Bordeaux, Sud-Ouest, Bourgogne, Loire, Languedoc, Côtes-du-Rhône) afin de considérer sa distribution dans plusieurs terroirs (**Figure 46**).



**Figure 46.** Distribution du 1,8-cinéole ( $\mu\text{g/L}$ ) dans les vins français analysés ( $n=49$ ). Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey. Médiane :  $0,28 \mu\text{g/L}$  ; moyenne :  $0,79 \mu\text{g/L}$ .



L'analyse de 49 vins a révélé une concentration médiane de 0,28 µg/L, proche des teneurs moyennes mentionnées sur des vins australiens par Antalick *et al.* (2015). Cependant, certains vins sélectionnés pour leur expression végétale particulièrement fraîche ont des teneurs en eucalyptol susceptibles de contribuer à ces nuances puisqu'elles sont significativement plus élevées que le seuil de détection olfactive de ce composé dans le vin rouge (1,1 µg/L ; Hervé *et al.*, 2003). Par exemple, quelques vins de Cabernet Sauvignon de la région de Bordeaux (Pessac-Léognan, Médoc) analysés dans l'échantillonnage ont des concentrations en 1,8-cinéole allant jusqu'à 2,38 µg/L. Toutefois, les teneurs importantes en eucalyptol des trois vins d'appellation Pauillac (PT09, PT10, PT11) n'ont pas une origine exclusivement variétale ; celle-ci a été détaillée dans le **chapitre 12**. De plus, malgré leur teneur relativement élevée en 1,8-cinéole, un certain nombre de vins ne possèdent pas, pour autant, des concentrations importantes en IBMP (supérieures à 10 ou 15 ng/L) (**Tableau 31**).

Par ailleurs, un cépage comme le Fer Servadou (FS) se révèle avec des teneurs proportionnellement élevées en 1,8-cinéole ; tous les vins dérivant exclusivement ou en partie de ce cépage (FRT14) ont des concentrations proches (IRI75) ou supérieures (IRI82, MTX123, MTX97, MAR11, IRI39) à son seuil de détection olfactive. Il est aussi intéressant de relever que les niveaux de concentration retrouvés dans les vins de ce cépage sont supérieurs aux concentrations moyennes des vins de Pinot Noir (0,99 µg/L) et proches de celles des vins de Cabernet Sauvignon et des vins de Syrah d'Australie : 2,82 et 1,75 µg/L, respectivement (Antalick *et al.*, 2015). À noter également que, d'après Capone *et al.* (2011), plus de 50 % des Cabernets Sauvignon australiens possèdent des concentrations comprises entre 1 et 5 µg/L d'eucalyptol.

Le Fer Servadou est un cépage appartenant à la famille des Carmenets. Il est probablement natif de sud-ouest de la France (Pays-Basque), comme le Cabernet franc (Lavignac, 2001). De nos jours, il est essentiellement cultivé dans cette région, principalement dans les appellations de Marcillac et de Gaillac. Il est aussi retrouvé dans la région de Madiran où il prend le nom de « Pinenc » et s'associe au Tannat dans l'assemblage. Selon les régions, on le retrouve aussi sous le nom de « Braucol » ou « Mansois ». Ces vins ont des caractéristiques aromatiques proches de celles des Cabernets (franc et Sauvignon) : cassis, herbes aromatiques et poivron vert. Nos résultats suggèrent donc que le 1,8-cinéole être un contributeur actif à l'expression aromatique de ces vins, et peut-être même à leur typicité.

**Tableau 31. Concentrations en 1,8-cinéole (moyenne  $\pm$  écart-type  $\mu\text{g/L}$ ) et en IBMP (moyenne  $\pm$  U  $\text{ng/L}$ ) dans les vins commerciaux ou expérimentaux.**

| Région    | Appellation                    | Millésime | Variété                | 1,8-cineole     | IBMP           | Code   |
|-----------|--------------------------------|-----------|------------------------|-----------------|----------------|--------|
| Bordeaux  | Pessac-Léognan                 | 2007      | CS, (M)                | 0,62 $\pm$ 0,01 | 2,2 $\pm$ 1,3  | CR07   |
| Bordeaux  | Pauillac ( <i>cru classé</i> ) | 2005      | CS, (M)                | 0,85 $\pm$ 0,08 | < LOD          | PL05   |
| Bordeaux  | Pauillac                       | 2014      | CS, (M)                | 1,04 $\pm$ 0,09 | 2,6 $\pm$ 1,4  | PT14   |
| Bordeaux  | Pauillac                       | 2009      | CS, (M)                | 2,24 $\pm$ 0,11 | 2,7 $\pm$ 1,4  | PT09   |
| Bordeaux  | Pauillac                       | 2010      | CS, (M)                | 2,38 $\pm$ 0,01 | 4,3 $\pm$ 1,9  | PT10   |
| Corse     | Corse                          | 2014      | N, Sc                  | 1,86 $\pm$ 0,03 | < LOD          | COR14  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 0,86 $\pm$ 0,05 | 10,9 $\pm$ 3,1 | IRI75  |
| Sud-ouest | Fronton                        | 2014      | N, (CF, CS, G, Sy, FS) | 1,02 $\pm$ 0,01 | 6,5 $\pm$ 2,3  | FRT14  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 1,74 $\pm$ 0,05 | 10,5 $\pm$ 3,0 | IRI82  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 1,82 $\pm$ 0,11 | 6,5 $\pm$ 2,3  | MTX123 |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 2,45 $\pm$ 0,18 | 27,2 $\pm$ 5,2 | MTX97  |
| Sud-ouest | Marcillac                      | 2011      | FS                     | 2,60 $\pm$ 0,13 | 23,7 $\pm$ 4,8 | MAR11  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 2,61 $\pm$ 0,03 | 20,5 $\pm$ 4,4 | IRI39  |
| Chili     | Chili                          | 2013      | CS                     | 2,74 $\pm$ 0,06 | 15,0 $\pm$ 3,7 | CHI13  |
| Australia | Margaret River                 | 2011      | CS                     | 2,79 $\pm$ 0,02 | 9,5 $\pm$ 2,9  | CAP11  |

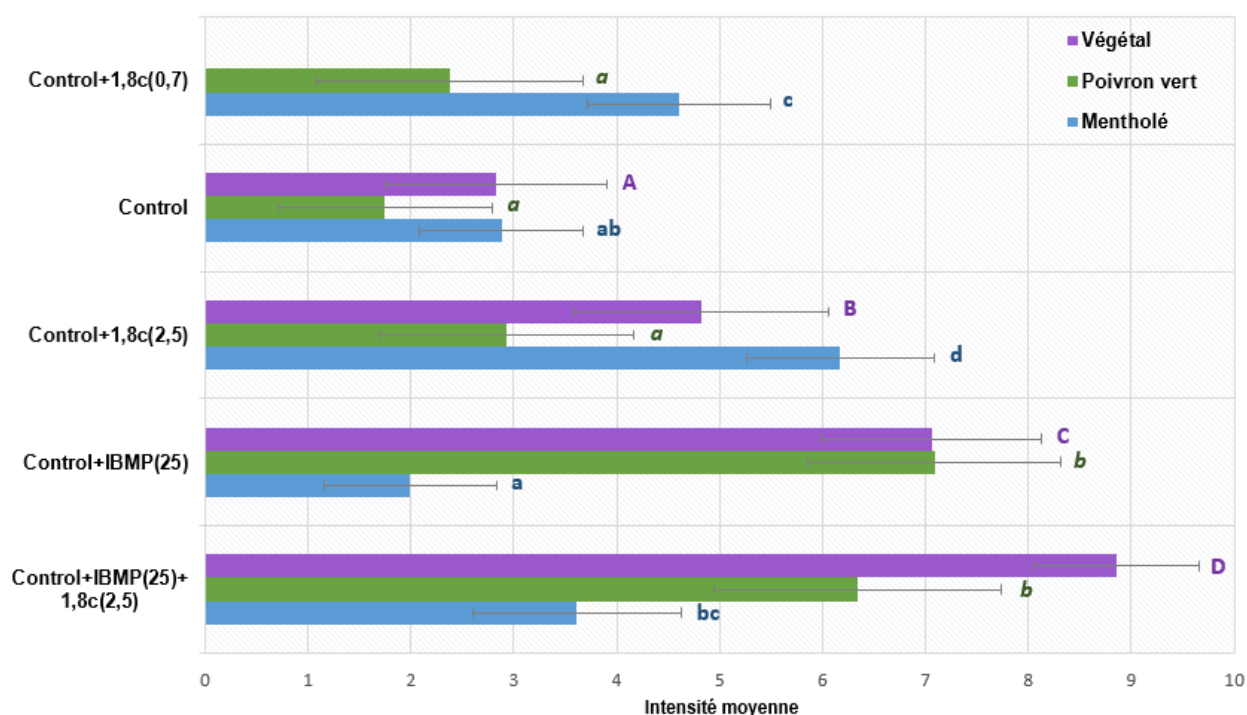
\* CS, Cabernet Sauvignon ; M, Merlot ; CF, Cabernet franc ; FS, Fer Servadou ; N, Négrette ; G, Gamay ; Sy, Syrah ; N, Nielluccio ; Sc, Sciacarello. LOQ, Limite de quantification. Les variétés entre parenthèses sont minoritaires dans l'assemblage

### 3. ESTIMATION DE L'IMPACT SENSORIEL DU 1,8-CINEOLE DANS LES VINS

Les teneurs relativement élevées de 1,8-cinéole mesurées dans certains vins, proportionnellement à son seuil de détection olfactive, nous ont conduites à mettre en œuvre des tests sensoriels afin de caractériser son impact aromatique.

Les tests ont été réalisés dans un vin rouge neutre par un ajout direct du composé. De plus, afin de considérer d'éventuels phénomènes perceptifs avec l'IBMP, des tests sensoriels ont été menés en considérant les ajouts croisés de ce composé avec le 1,8-cinéole dans un vin rouge commercial de Bordeaux, non vieilli en barrique. Ce vin présentait des arômes neutres et

contenait de faibles concentrations en 1,8-cinéole (0,1 µg/L) et en IBMP (< LOD). Deux concentrations de 1,8-cinéole ont été supplémentées en cohérence avec les résultats du **Tableau 31** : 0,7 µg/L (teneurs basses), 2,5 µg/L (teneurs hautes). De même, l'IBMP a été ajoutée à une concentration d'impact de 25 ng/L correspondant aux teneurs hautes mesurées dans les vins. Notons que ces concentrations (2,5 µg/L pour 1,8-cinéole, 25 ng/L pour l'IBMP) correspondent au vin de Marcillac (MAR11) considéré comme un « bon modèle » d'expression aromatique végétale. L'évaluation sensorielle a été réalisée sur le critère de la perception générale des nuances végétales avec le *panel 4*, ainsi que sur les descripteurs qui la composent en accord avec les propriétés odorantes du 1,8-cinéole et de l'IBMP : « poivron vert » et « mentholé », respectivement avec le *panel 5*.



**Figure 47. Intensité moyenne du descripteur « végétal », « poivron vert » et « mentholé ».** La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95 %. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$  valeur < 0,05)

### 3.1. Appréciation orthonasale de l'intensité du descripteur végétal

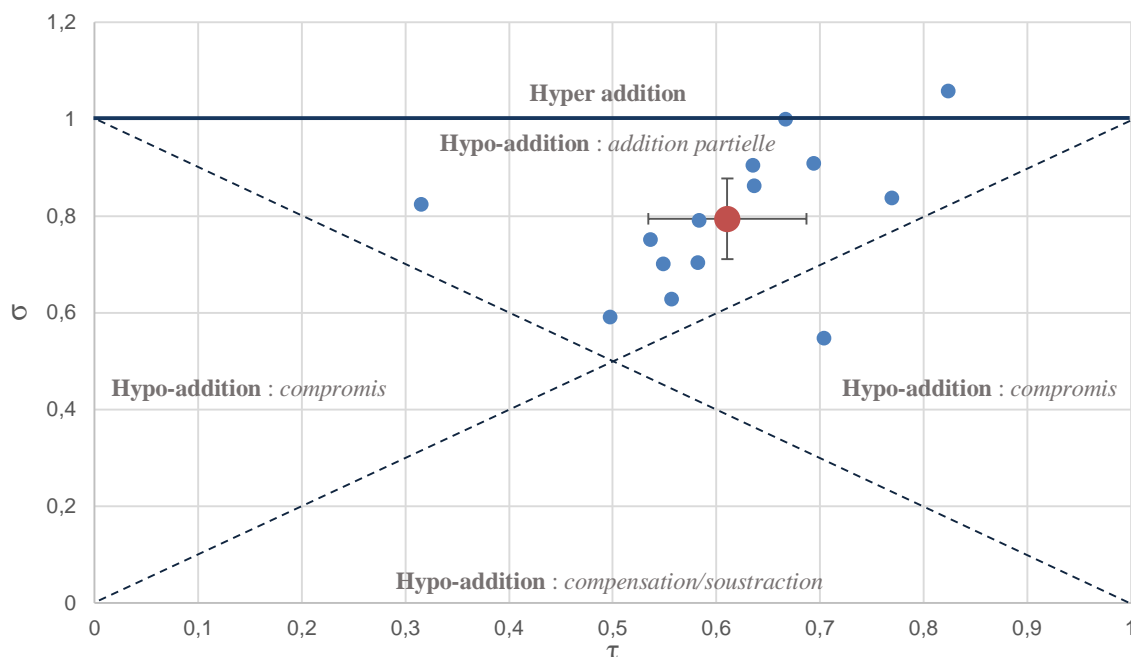
L'évaluation générale du descripteur végétal montre que l'addition de l'IBMP ou du 1,8-cinéole génère une augmentation significative de l'intensité de ce descripteur par rapport à la modalité témoin ( $p\text{-valeur} < 0,001$ ) (**Figure 47**). L'addition de 2,5 µg/L de 1,8-cinéole augmente donc, de manière similaire à l'IBMP, la perception des nuances végétales des vins rouges. De plus, l'intensité des nuances perçues dans le vin contenant le 1,8-cinéole et l'IBMP diffère significativement de celle perçue dans le vin contenant uniquement le 1,8-cinéole ou seulement l'IBMP ( $p\text{ valeur} < 0,001$ ). La perception du descripteur végétal associé à l'IBMP est donc renforcée par la présence de 1,8-cinéole à une concentration de 2,5 µg/L.

De manière similaire au **chapitre 3**, l'interaction perceptive entre ces deux composés a été caractérisée en s'appuyant sur le modèle de Patte et Laffort (1979). Là encore, l'évaluation ayant eu lieu sur un unique descripteur (végétal), nous avons considéré le mélange comme homogène. Celui constitué du 1,8-cinéole et de l'IBMP engendre un effet d'hypo-addition (**Figure 48**). Toutefois, cette hypo-addition est une addition partielle, c'est-à-dire que le mélange présente une intensité (végétale) supérieure à celle des composés pris individuellement.

L'effet de synergie a été aussi estimé par la réalisation de deux seuils de perception de l'IBMP selon une méthode ascendante (réalisé avec le *panel 6*). Le premier seuil de détection olfactive a été effectué en milieu modèle de composition proche du vin (5 g/L de L(+)-acide tartrique, 12 % vol., pH 3,5) selon 6 niveaux de concentration : 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10 ; 12,5 ; 15 ng/L d'IBMP. Le second seuil a été réalisé selon les mêmes conditions, mais avec 0,8 µg/L de 1,8-cinéole dans la solution modèle. Les seuils de détection olfactive estimés par la méthode BET (Best Estimate Threshold) sont similaires avec des valeurs respectives de 7,5 ng/L et 7,6 ng/L, ce qui prouve une absence de synergie avérée entre ces deux composés à ces concentrations.

Toutefois, sans que l'on puisse donc parler d'hyper-addition ou de synergie, une tendance se dessine quant à l'augmentation de la perception de nuances végétales dans le vin rouge contenant simultanément des concentrations significatives en IBMP et en 1,8-cinéole. Ainsi, la présence de 1,8-cinéole confirme nos hypothèses quant à la contribution d'autres composés contribuant à l'intensification des nuances végétales perçues. De plus, la configuration des niveaux de concentration respectifs à 2,5 µg/L pour le 1,8-cinéole et 25 ng/L pour l'IBMP correspond à celle du vin de Marcillac (MAR11) préalablement évoqué.

La concentration en 1,8-cinéole de ce vin amplifie donc probablement l'intensité perçue du descripteur « végétal » ; cela pourrait expliquer, du moins en partie, son positionnement excentré par rapport à la droite de corrélation entre les notes d'exemplarité à cette famille aromatique et les concentrations en IBMP (**chapitre 3, § 3.2**).



**Figure 48.** Effet de l'addition du 1,8-cinéole (2,5 µg/L) sur l'intensité perçue du descripteur « végétal » d'un vin rouge contenant 25 ng/L d'IBMP. Représentation graphique [ $\sigma = f(\tau)$ ] par Patte et Laffort (1979). Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95 % des valeurs  $\sigma$  et  $\tau$ , chaque point en bleu symbolise l'évaluation par un juge, le point en rouge est la moyenne de ceux-ci.

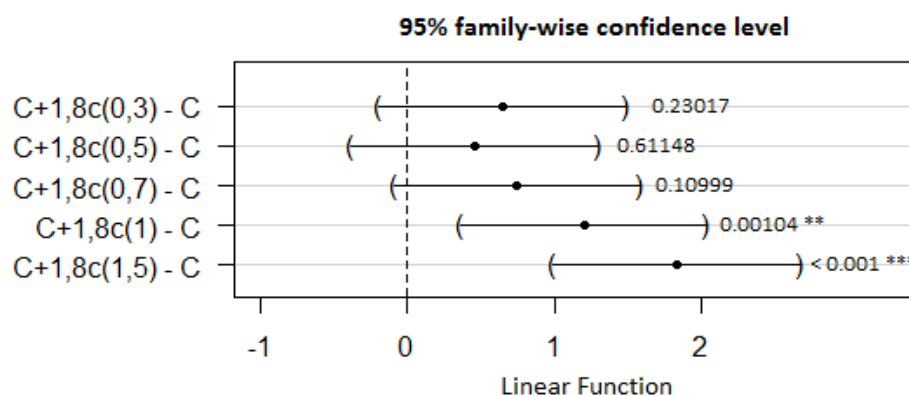
### 3.2. Évaluation de l'intensité des descripteurs « mentholé » et « poivron vert »

La seconde session d'analyse sensorielle a été conduite par le panel 5 afin de déterminer quelles étaient les tonalités végétales générées par la supplémentation d'un vin rouge avec chacun des deux composés : 1,8-cinéole et IBMP.

Cette analyse a confirmé que les descripteurs associés à l'ajout de 1,8-cinéole et d'IBMP dans le vin étaient différents (**Figure 47**). L'addition d'IBMP est directement associée à la

perception de nuances de poivron vert ; les échantillons contenant de l'IBMP étant significativement différent des autres sur cette caractéristique aromatique ( $p$ -valeur  $< 1.10^{-4}$ ).

Par contraste, l'addition de 1,8-cinéole augmente la perception de nuances mentholées. Ainsi, il est établi qu'une concentration au-delà de  $0,7 \mu\text{g/L}$  en 1,8-cinéole est suffisante pour intensifier ces nuances dans le vin rouge de Bordeaux ( $p$ -valeur  $< 0,038$ ). En outre, une autre évaluation sensorielle de cette nuance, réalisée à plusieurs niveaux de concentration ( $0,3$  ;  $0,5$  ;  $0,7$  ;  $1$  ;  $1,5 \mu\text{g/L}$ ) avec le panel 5, a permis de préciser que la concentration de  $0,7 \mu\text{g/L}$  était la limite au-delà de laquelle le 1,8-cinéole avait un impact sensoriel sur les vins rouges de Bordeaux (**Figure 49**).



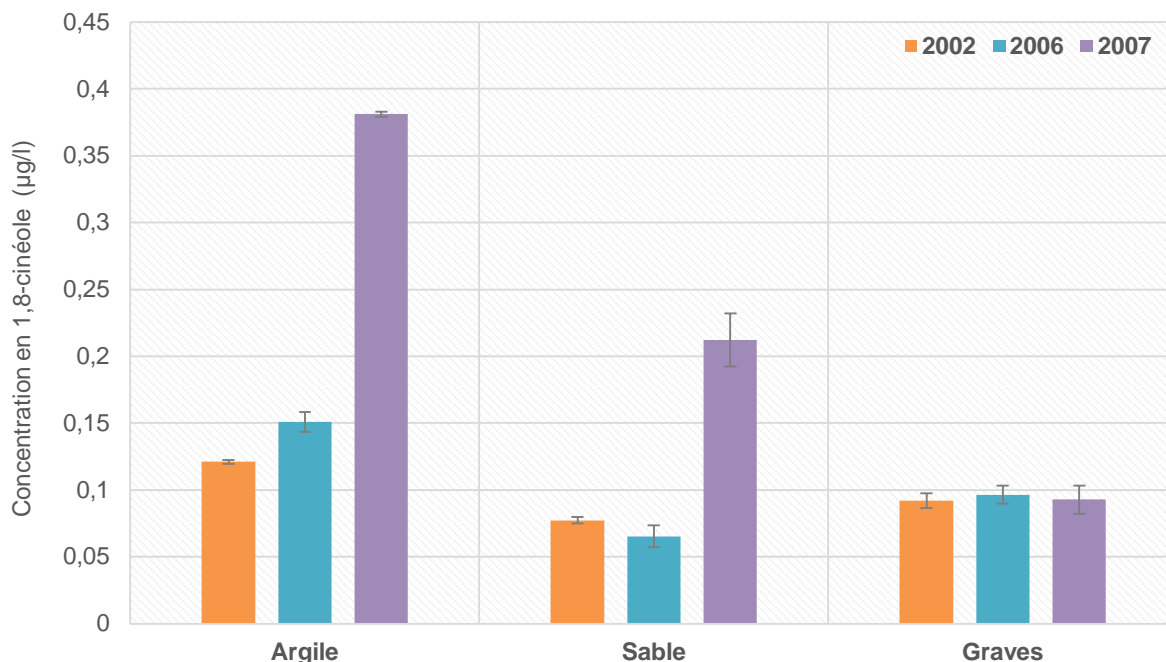
**Figure 49.** « Family-wise confidence level » sur le descripteur « mentholé » entre le témoin et le vin supplémenté par les différentes concentrations en 1,8-cinéole ( $0,3$  ;  $0,5$  ;  $0,7$  ;  $1$  ;  $1,5 \mu\text{g/L}$ ). Le nombre indique la  $p$ -valeur associée au niveau de significativité à 95 % (\*)

Dans les plages de concentration retrouvées (**Tableau 31**), le 1,8-cinéole contribue donc à accroître les nuances vertes de type « mentholé » dans les vins rouges. La concentration seuil déterminée est légèrement inférieure au seuil de détection olfactive défini dans les vins de Merlot de Californie (Hervé *et al.*, 2003) qui, rappelons-le, expriment bien souvent des notes prononcées de fruits cuits, d'épices et de vanille. De plus, dans notre cas, les juges étaient spécifiquement entraînés sur cette nuance et orientaient leur jugement sur de descripteur. Enfin, il est aussi possible que d'autres composés aux tonalités proches et présents dans les vins de Bordeaux, comme certains terpènes par exemple (Picard *et al.*, 2016 ; Pons *et al.* 2016), puissent contribuer à accroître ces nuances mentholées par des effets de synergie ou d'hyper additivité.

#### 4. Évolution des concentrations en 1,8-cinéole dans les raisins et les vins en fonction de composantes du terroir : climat et sol

Dans leurs travaux, Antalick *et al.*, (2015) formulent l'hypothèse que le contenu élevé en 1,8-cinéole dans les vins australiens puisse être associé aux facteurs abiotiques du terroir (climat x humidité du sol). En effet, l'origine exogène du composé ne peut suffire à expliquer les différences de concentrations moyennes entre les vins rouges des cépages Pinot noir, Shiraz et Cabernet-Sauvignon.

Afin de préciser l'impact de la structure du sol sur les concentrations en 1,8-cinéole, nous avons analysé des vins obtenus par microvinification de Merlot (sélection massale) au cours de trois millésimes (2002, 2006 et 2007) et provenant de parcelles aux structures pédologiques très différentes : argile, sable et graves (**Figure 50**). Deux espèces de porte-greffe peu vigoureux sont représentées : Riparia Gloire de Montpellier (Graves), 101-14MGt (Argile, Sable).



**Figure 50.** Concentration (µg/L) en 1,8-cinéole dans des vins de Merlot (moyenne  $\pm$  écart type ; n=2) issus de parcelles cultivées sur les principaux sols de la région de Bordeaux (argile, sable, graves) au cours de trois millésimes (2002, 2006, 2007)

L'analyse des vins expérimentaux montre que la parcelle au sol argileux possède des teneurs en 1,8-cinéole plus importantes sur les trois millésimes analysés. L'effet millésime est bien marqué sur ce sol, avec une teneur jusqu'à 3 fois supérieures pour les vins issus d'un millésime aux conditions climatiques peu favorables comme 2007. Cet effet du millésime rejoint ainsi nos précédentes observations dans lesquelles le contenu en 1,8-cinéole des vins était, tout comme l'IBMP, nettement supérieur en 2014 par rapport à 2015 (§ 2.1). L'observation de ces deux millésimes à Bordeaux révèle que les températures moyennes des mois de juillet et août ont été plus importantes pour le millésime 2015 avec des maximales plus élevées (ANNEXE IX). De fait, les températures froides de la région de Coonawarra en Australie pourraient bien être à l'origine des teneurs plus accrues en 1,8-cinéole dans ces vins, comme le suggère Antalick *et al.* (2015). Le millésime 2015 a aussi reçu moins de précipitations annuelles (598,5 mm) que le millésime 2014 (990,5 mm), avec une différence surtout sur la première moitié de l'année (janvier à juillet), durant l'hiver et la période végétative de la vigne. De plus, à l'inverse du sol argileux, le sol de graves possède des teneurs constamment plus basses (de l'ordre de 0,1 µg/L). La capacité drainante de ce type de sol impacte vraisemblablement sur la physiologie de la vigne, notamment par le fait que les teneurs en 1,8-cinéole restent toujours plus faibles. Cette étude mériterait alors d'être considérée avec des vins de Cabernet Sauvignon pour lesquels la teneur en 1,8-cinéole est supérieure (**Figure 44**).

## 5. CONCLUSION

L'analyse quantitative du 1,8-cinéole réalisé au cours de ce chapitre a donc permis d'affirmer l'origine variétale de ce composé et de confirmer la filiation de ses teneurs avec le niveau de maturité des raisins. En effet, une décroissance importante, de 57 à 90 % est observée au cours du dernier mois de maturation des baies.

De plus, une disparité importante entre les cépages a pu être révélée. En outre, les vins de Cabernet Sauvignon possèdent des concentrations supérieures en 1,8-cinéole à ceux de Merlot, mais qui restent inférieures à celles rencontrées dans le vin de Fer Servadou. Les analyses sensorielles ont permis d'observer un accroissement des nuances mentholées au-delà d'une concentration de 0,7 µg/L supplémentée dans un vin rouge, soit un niveau de concentration déterminé dans certains vins (Bordeaux, Corse, Gaillac) dans lesquels il contribue à renforcer de manière significative ces mêmes nuances. Par ailleurs, lorsqu'il est en présence de l'IBMP,



il renforce l'intensité perçue du descripteur « végétal » par un effet d'addition partielle avec celle-ci. Cela explique probablement l'amplification de l'expression végétale de certains vins par rapport à leur teneur en IBMP, comme le vin de l'appellation Marcillac par exemple (**chapitre 3**). De plus, par la distribution de sa concentration dans les « bons » et « les mauvais modèles » (**chapitre 3**), le 1,8-cinéole apparaît aussi – sans avoir un impact sensoriel direct – comme un marqueur chimique pertinent, apte à traduire un état aromatique qualifié de « végétal ».

En plus d'un effet du cépage, la teneur de ce composé dans les vins semble entretenir un lien étroit avec certaines composantes du terroir comme le sol ou le climat. D'ailleurs, une origine exogène nouvelle, que nous intégrons aussi à la notion de terroir, a fait l'objet d'un chapitre particulier (**chapitre 12**).

Dès lors, il est apparu intéressant de préciser la localisation et l'évolution de ce composé dans le raisin avec, notamment, un suivi au cours du développement de la baie. Ce travail est présenté dans le chapitre suivant.

# **Chapitre 6. Localisation dans la baie et évolution au cours de la maturation du 1,8-cinéole et des autres marqueurs d'arômes végétaux**

## **1. INTRODUCTION**

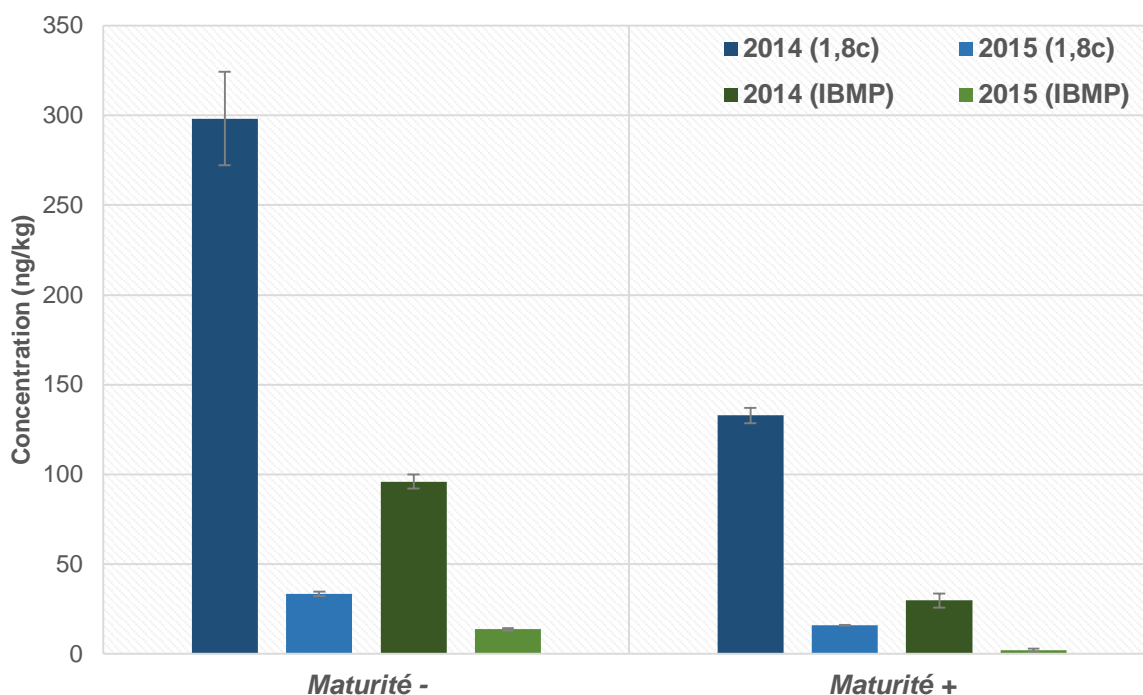
À ce jour, concernant les composés dont les propriétés aromatiques appartiennent à la famille du végétal, seule l'évolution de l'IBMP dans le raisin fait l'objet d'un consensus et d'une connaissance appuyée. Aussi, bien que plusieurs auteurs aient étudié le lien entre les composés végétaux et leur évolution au cours de la maturation du raisin, les données qui en résultent restent contradictoires, comme pour le 1,8-cinéole (Farina *et al.*, 2005 ; Kalua *et al.*, 2009) et les alcools en C6 (Kalua *et al.*, 2009 ; Bindon *et al.*, 2013 ; Mendez-Costabel *et al.*, 2013), ou très peu documentées, comme pour l'IPMP ou la sBMP.

Dans les chapitres précédents, la présence du 1,8-cinéole dans les vins expérimentaux a suggéré une biosynthèse *in situ* du composé (**chapitre 4**). De plus, les analyses ont montré que sa teneur diminuait avec l'état de maturité des raisins de Cabernet Sauvignon et de Merlot (**chapitre 5**).

L'un des objectifs de ce chapitre était donc de préciser, au cours de la maturation des raisins de Merlot et de Cabernet Sauvignon, la cinétique d'évolution du 1,8-cinéole, mais aussi d'autres marqueurs moléculaires : alcools en C6 et méthoxypyrazines (IPMP, sBMP) pour lesquels les données sont fragmentaires.

## 2. QUANTIFICATION DU 1,8-CINEOLE ET DE L'IBMP DANS LES RAISINS DU MODELÉ D'ÉTUDE DE LA MATURITÉ

Une quantification du 1,8-cinéole et de l'IBMP a été réalisée dans les raisins de Cabernet Sauvignon ayant permis l'élaboration des vins expérimentaux sur le millésime 2014 et 2015, avec l'objectif de confirmer la filiation entre les teneurs des raisins et les teneurs des vins desquels ils sont issus (**Figure 51**).



**Figure 51.** Concentration en 1,8-cinéole et en IBMP ( $\pm$  écart type) exprimée en ng/kg de matière fraîche dans les raisins de Cabernet Sauvignon ayant servi à l'élaboration du modèle d'étude de la maturité (millésime 2014 et 2015).

Les concentrations en 1,8-cinéole et en IBMP suivent une nette diminution entre les deux modalités (*Maturité-* et *Maturité+*), correspondant au dernier mois de maturation de la baie, en conformité avec les observations réalisées sur les vins (**chapitre 5**). De plus, l'effet du millésime, observé sur les vins entre 2014 et 2015, est confirmé avec, là encore, des concentrations beaucoup plus faibles dans les raisins en 2015 par rapport à 2014.

Ces résultats finalisent ainsi l'étude des vins expérimentaux du modèle et confirment que leur concentration en 1,8-cinéole est bien reliée à l'évolution de ce composé dans les raisins ; concentration qui varie avec le millésime et avec la maturité, au même titre que l'IBMP.

### **3. CINÉTIQUE D'ÉVOLUTION DES COMPOSES VÉGÉTAUX AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE LA BAIE**

Afin de préciser la variation des composés végétaux au cours du développement de la baie et de la mettre en relation avec celle des 2-méthoxy-3-alkylpyrazines, nous avons réalisé un suivi cinétique sur des parcelles expérimentales de Merlot et de Cabernet Sauvignon. 100 baies de raisin ont donc été prélevées chaque semaine depuis le stade « petit pois » jusqu'au début du mois d'octobre (stade de surmaturité), de manière randomisée sur les mêmes plants de vigne, sains et marqués, d'une parcelle expérimentale de l'ISVV.

#### **3.1. 1,8-cinéole**

Que ce soit dans les raisins de Cabernet Sauvignon ou de Merlot, le 1,8-cinéole subit une forte décroissance dès le mois de juillet avec une phase d'accumulation préalable alors que pour l'IBMP, la phase de décroissance au mois d'août suit une phase d'accumulation en juillet (**Figure 52**). Il est donc probable que la phase d'accumulation du 1,8-cinéole ait lieu avant le stade « petit pois » et, comme le suggère Kalua *et al.* (2009), qu'il soit synthétisé dans les tissus floraux du raisin.

De plus, les différences de concentrations finales en 1,8-cinéole observées dans le Merlot par rapport au Cabernet Sauvignon semblent plus imputables à un écart dans leur capacité de synthèse plutôt que dans leur cinétique de dégradation qui apparaît, finalement, relativement similaire pour les deux cépages. Ceci contraste avec l'IBMP dont les concentrations, également plus faibles dans les Merlots par rapport aux Cabernet Sauvignon, semblent s'expliquer par des différences de dégradation et non pas d'accumulation.

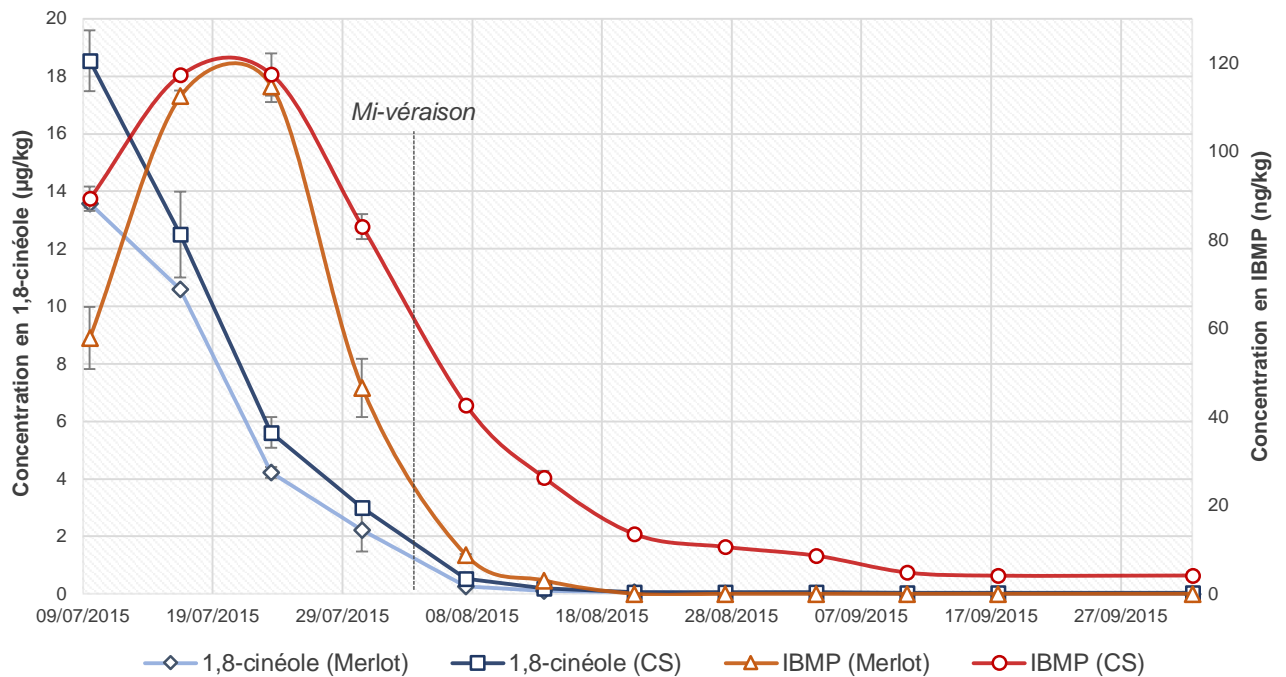


Figure 52. Variation des concentrations (µg/kg et ng/kg de matière fraîche) en IBMP et en 1,8-cinéole dans les raisins de Cabernet Sauvignon et de Merlot au cours du développement des baies sur le millésime 2015.

De plus, la représentation graphique de l'évolution des concentrations en IBMP et en 1,8-cinéole à partir du 20 août montre que les courbes de tendances (polynomiales) établies à partir des variations du 1,8-cinéole et de l'IBMP sur cette période sont similaires (Figure 53).

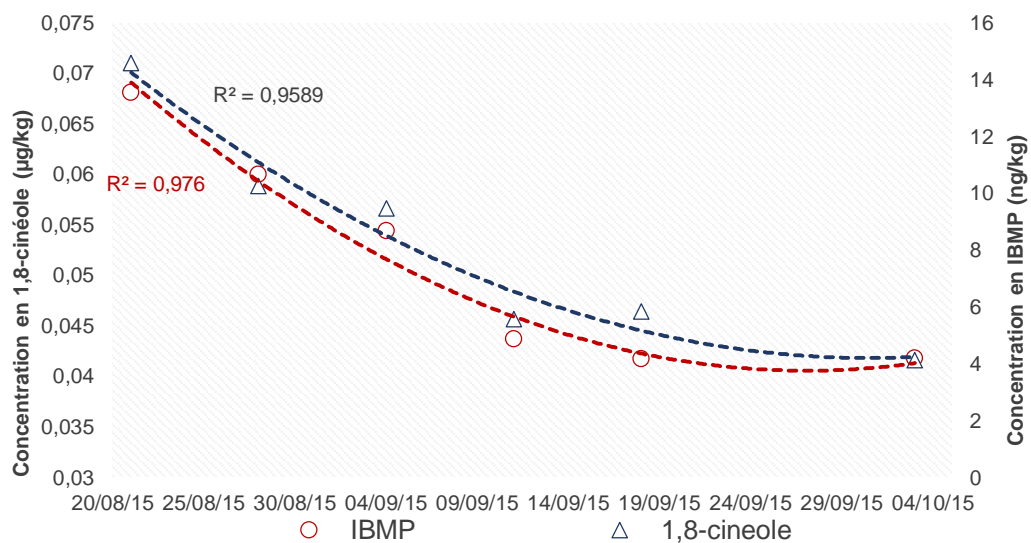


Figure 53. Tendence d'évolution des concentrations (µg/kg ou ng/kg de matière fraîche) en IBMP et en 1,8-cinéole durant le dernier mois de maturation des baies de Cabernet Sauvignon au cours du millésime 2015.

### 3.2. IPMP, sBMP et alcools en C6

En parallèle du 1,8-cinéole, les teneurs en méthoxypyrazines et en alcools en C6 ont été estimées sur les mêmes modalités de raisin de Cabernet-Sauvignon du millésime 2015 (Figure 54).

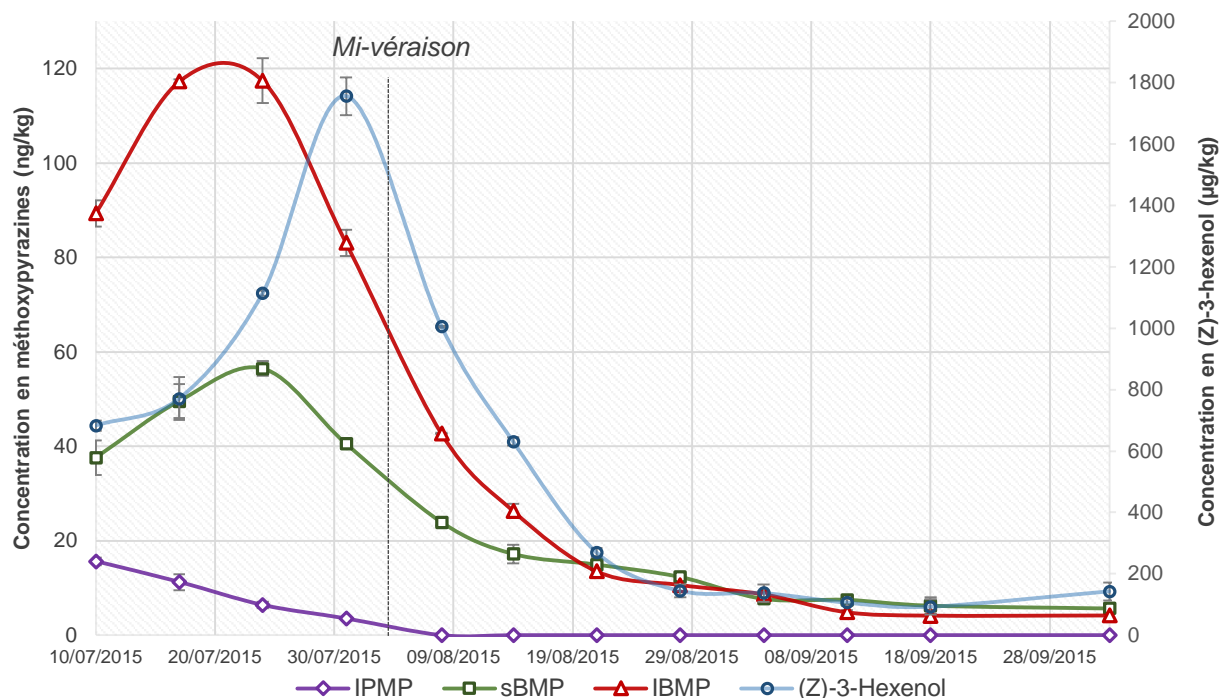


Figure 54. Variation des concentrations (ng/kg de matière fraîche) en IPMP, sBMP et IBMP et (Z)-3-hexenol dans les raisins de Cabernet Sauvignon au cours du développement des baies (millésime 2015).

S'agissant de l'évolution des concentrations de 2-méthoxy-3-alkylpyrazines et du (Z)-3-hexenol, au cours du millésime 2015, les concentrations en IPMP ne montrent pas de phase d'accumulation après le stade « petit pois » (10 juillet), à l'inverse de celles d'IBMP et de la sBMP dont les maxima de concentrations sont presque concomitants. La dégradation précoce de l'IPMP conduit à une absence de détection à partir du 08 août, proche de la mi-véraison. Dans ce millésime, la sBMP se retrouve au même niveau de concentration que l'IBMP durant le dernier mois de maturation, soit dans des niveaux de concentration particulièrement bas. En outre, ces tendances suggèrent que les deux méthoxypyrazines puissent avoir des analogies avec l'IBMP dans leur voie de biosynthèse. Ainsi, de la même manière que l'IBMP provient de la

L-Leucine, l'IPMP et la sBMP pourraient provenir, respectivement, de la L-valine et de la L-isoleucine.

Parmi les alcools en C6, seul le (Z)-3-hexenol présente une décroissance qui s'opère dans le sens de la maturité des raisins ; le profil de son évolution est proche de celui de l'IBMP, avec deux phases principales : augmentation puis diminution. Le pic de concentration mesurée (31 juillet) est toutefois décalé d'une semaine par rapport à celui observé sur la sBMP et l'IBMP (24 juillet). La cinétique d'évolution, également proche de l'IBMP, explique vraisemblablement la bonne corrélation observée dans les vins rouges entre le (Z)-3-hexenol et celle-ci (**chapitre 3**) : coefficient de Spearman de 0,585 ;  $p\text{-valeur} = 0,008$  à 95 %.

De plus, le (Z)-3-hexenol à l'avantage de ne pas être métabolisé par *S. cerevisiae* (Herrainz *et al.*, 1990) à l'inverse des autres C6 insaturés qui sont réduits en hexanol. De même, ce composé ne subit que très peu de variations au cours de la fermentation. Par conséquent, il est possible que sa concentration dans les vins soit reliée à celles des raisins, ce qui en fait ainsi un marqueur de maturité pertinent. Toutefois, la concentration de ce composé dans les vins reste sous la dépendance d'activités enzymatiques et dépend d'autres facteurs que la maturité elle-même, comme, par exemple, d'actions technologiques qui engendrent des phénomènes de trituration de la vendange.

Ainsi, bien que nous ayons réfuté les hypothèses qui les positionnaient comme des contributeurs odorants du caractère végétal des vins rouges (**chapitre 3**), l'évolution de ces composés au cours de la maturation du raisin les positionne comme des marqueurs chimiques intéressants.

## 4. LOCALISATION DU 1,8-CINEOLE DANS LA GRAPPE ET DANS LA BAIE

Le dosage du 1,8-cinéole dans les baies et les rafles des raisins de Cabernet Sauvignon (millésime 2015) des deux modalités *Maturité+* et *Maturité-* a été réalisé en suivant le même protocole pour les deux matériels végétaux (**Figure 55**).

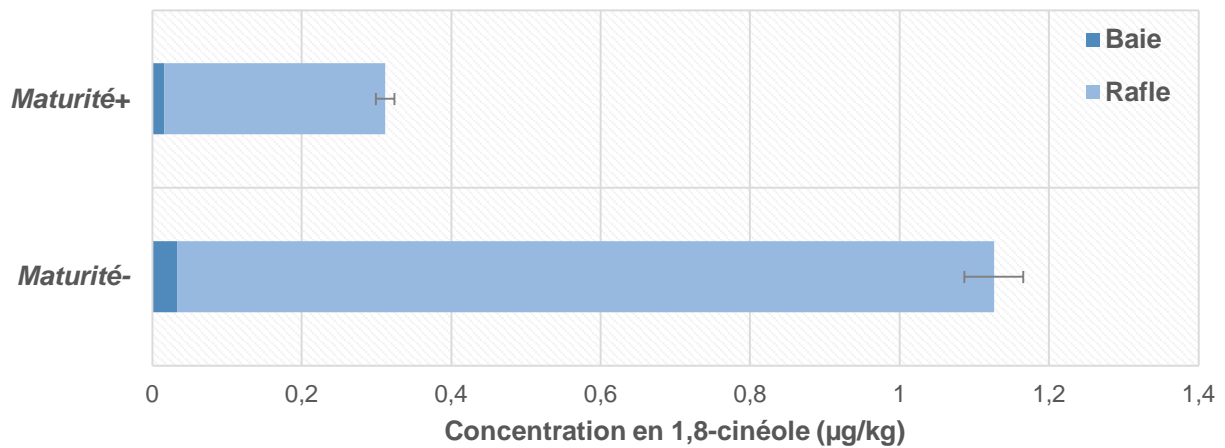


Figure 55. Concentration en 1,8-cinéole (µg/kg de matière fraîche) dans les baies et les rafles des raisins de Cabernet Sauvignon des modalités *Maturité-* et *Maturité+* du millésime 2015.

Les analyses montrent une proportion importante de 1,8-cinéole localisée dans la rafle de Cabernet Sauvignon qui rejoint les observations de Roujou de Boubée (2000) concernant l'IBMP. De ce fait, nos conclusions rejoignent aussi les siennes quant à l'influence de la qualité de l'éraflage vis-à-vis des teneurs en 1,8-cinéole des vins rouges. Notons aussi que l'évolution du 1,8-cinéole dans la rafle subit une nette décroissance avec la maturité du raisin, et de manière quasiment proportionnelle à celle de la baie. Là encore, d'un point de vue technologique, la concentration en 1,8-cinéole dans les vins sera d'autant plus favorisée que des rafles (ou portion de rafle) à faible maturité seront intégrées à la cuve de vinification.

Les proportions pellicule/pulpe ont aussi été estimées dans les baies de Cabernet Sauvignon du millésime 2014 (Haut-Médoc) après séparation manuelle et analyses des différentes parties selon un protocole similaires à celui des baies entières (Figure 56).

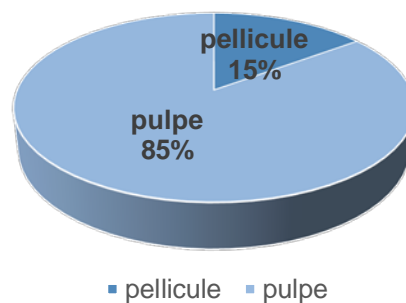


Figure 56. Localisation du 1,8-cinéole dans la baie de raisin.



Bien que des traces de 1,8-cinéole aient été mesurées dans les pépins (< 1 %), il est très probable qu'elles proviennent de résidus de pulpe qui les entourent. Cette expérimentation révèle que le 1,8-cinéole est surtout contenu dans la pulpe du raisin (85 %). Ainsi, considérant une extraction complète, seulement 15 % du potentiel total du raisin est apporté par la pellicule. Ces résultats tranchent avec les études australiennes (Capone *et al.*, 2012) qui montrent que le 1,8-cinéole a principalement une localisation pelliculaire (80 %). La différence d'origine (variétale ou exogène) explique très probablement cette différence. En effet, ce composé volatil, transféré par voie aérienne des eucalyptus vers la vigne, est adsorbé au niveau de la pellicule du raisin. Finalement, ces deux résultats antagonistes ont une bonne complémentarité puisqu'ils pourraient permettre, par l'estimation du ratio pellicule/pulpe, d'attester de l'une ou l'autre des origines.

La conséquence directe de cette localisation s'exprime dans la cinétique d'extraction de ce composé au cours de la vinification. En effet, les tests réalisés nous ont montré que la teneur en 1,8-cinéole reste constante au cours de la vinification des vins rouges de Cabernet Sauvignon ; sa teneur finale, après fermentation alcoolique et malolactique, est la même que celle des moûts à l'encuvage (résultats non communiqués). Cela suggère aussi que ce composé soit présent exclusivement sous sa forme libre et n'existe pas significativement sous une forme glycosilée comme d'autres terpènes (Gunata *et al.*, 1985a, 1985b). Cette localisation le différencie de l'IBMP située essentiellement dans les pellicules et les pépins (Roujou de Boubée, 2000).

De la même manière que cela a été réalisé pour le 1,8-cinéole, l'analyse des rafles de Cabernet Sauvignon (modalité *Maturité*- et *Maturité*+) a montré que l'IPMP, comme l'IBMP (Roujou de Boubée, 2000), est présente de manière importante dans cette partie du raisin. De plus, tout comme le 1,8-cinéole (**chapitre 5**), elle diminue avec la maturité de celles-ci, évoluant de  $111,6 \pm 0,2$  ng/kg à  $28,1 \pm 0,9$  ng/kg au cours du dernier mois de maturation des raisins. À l'inverse, et contrairement à ce que suggèrent d'autres auteurs (Hashizume *et al.*, 1996 ; 1997), nous n'avons pas détecté de teneurs significatives en sBMP dans les rafles analysées.

## **5. CONCLUSION**

Dans ce chapitre, la décroissance du 1,8-cinéole au cours du développement des baies de Cabernet Sauvignon et de Merlot (millésime 2015) a été établie. La mise en relation de cette décroissance avec celle de l'IBMP au cours du dernier mois de maturation des baies a mis en évidence une cinétique similaire, ce qui rejoint nos observations préalables (**chapitre 4**) et positionne ainsi le 1,8-cinéole comme un marqueur intéressant pour l'appréciation de la maturité des raisins sur cette période. De plus, sa localisation à 85 % dans la pulpe du raisin inclue que les teneurs rencontrées dans les moûts sont identiques à celle des vins, ce qui a pu être vérifié par ailleurs.

D'autre part, l'analyse des divers composés végétaux révèle que l'IPMP, la sBMP et le (Z)-3-hexenol peuvent aussi être considérés, dans une certaine mesure, comme des marqueurs de la maturité du fruit ; bien que certains, comme l'IPMP, disparaissent très précocement ou que d'autres, comme le (Z)-3-hexenol, peuvent avoir diverses origines, notamment technologiques.

Ce dernier point peut d'ailleurs constituer un facteur important de variation des concentrations en 1,8-cinéole, IPMP et IBMP. En effet, nous avons montré que le 1,8-cinéole et l'IPMP étaient, comme cela est connu pour l'IBMP, présents en forte concentration dans la rafle du raisin. Ainsi, la qualité de l'éraflage constitue certainement un modulateur important de leur concentration dans les vins, d'autant plus actif que le niveau de maturité de la vendange est faible.

# **TROISIÈME PARTIE :**

## **ÉTUDE DE LA CATÉGORIE AROMATIQUE DES VINS DE PRESSE**

# **Chapitre 7. Définition sensorielle de la catégorie aromatique « vin de presse »**

## **1. INTRODUCTION**

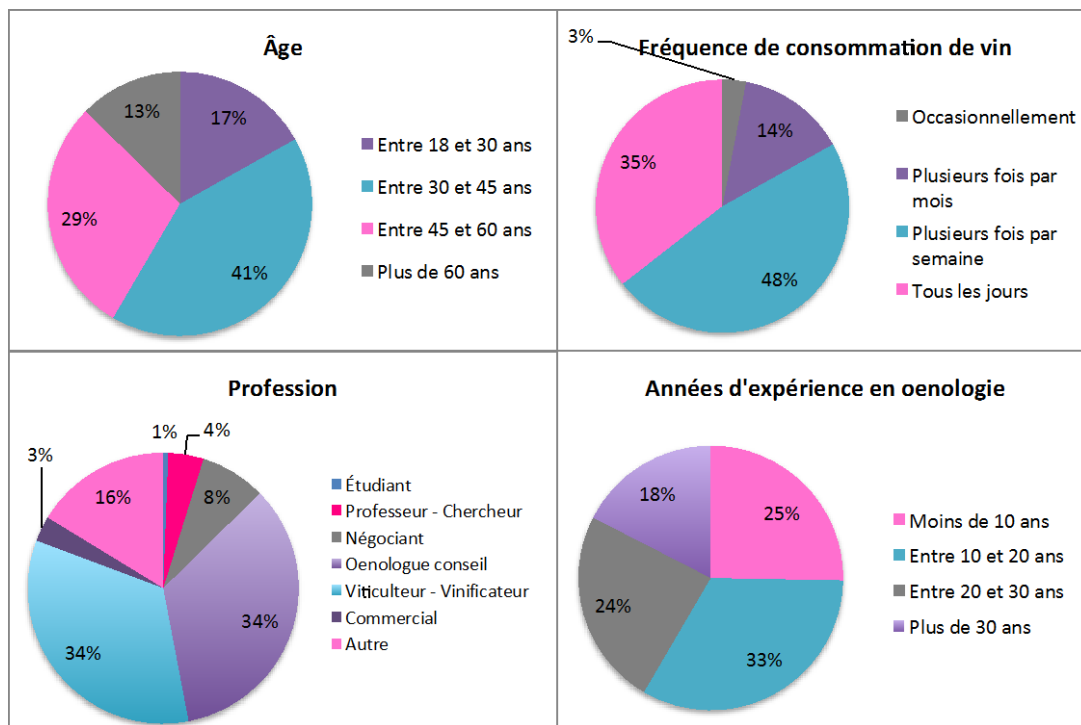
Que ce soit d'un point de vue sensoriel comme analytique, très peu d'informations scientifiques sont, à ce jour, disponibles sur les vins rouges de presse. La connaissance de leurs caractéristiques aromatiques repose principalement sur des observations empiriques (**Etude bibliographique**, § 5).

La sélection de bons et de mauvais modèles du caractère végétal établie au **chapitre 3** a fait ressortir la présence de deux vins de presse appartenant à la catégorie des bons modèles. Ainsi, cela rejoint les observations de certains auteurs quant à leur « *odeur herbacée qui domine pour les vins les plus communs* » Peynaud (1981).

Ce chapitre, qui introduit la troisième partie de notre étude sur l'arôme des vins de presse, avait pour objectif de définir l'existence d'un espace sensoriel qui leur est propre, en lien avec la famille aromatique du végétal. Une telle mise en lumière consiste en fait à démontrer qu'il existe un concept aromatique propre à un type de vin par rapport à un autre. Par exemple, Ballester *et al.* (2005) ont prouvé l'existence d'un espace sensoriel propre aux Chardonnays vis-à-vis d'autres cépages. Dans notre cas, nous avons donc cherché à vérifier que les vins de goutte et les vins de presse appartenaient à des catégories aromatiques différentes. Pour cela, une double approche a été employée ; basée à la fois sur un sondage des professionnels par le biais d'un questionnaire, mais aussi sur des évaluations sensorielles de vins de goutte et de vins de presse afin de pouvoir confronter leurs espaces sensoriels et, ainsi, définir leurs caractéristiques aromatiques.

## 2. PREMIÈRE APPROCHE DU CONCEPT DE « VIN DE PRESSE » PAR LE BIAIS D'UN QUESTIONNAIRE

Dans un premier temps, une enquête sous la forme d'un questionnaire anonyme inspiré des études de Picard *et al.* (2015a) a été diffusé à un large panel de professionnel de la filière (**Figure 57**). Ce questionnaire avait pour but de définir et de valider l'existence d'une dimension conceptuelle, et donc d'une représentation mentale, autour de la notion de « vin de presse ».



**Figure 57.** Caractéristiques du jury (166 personnes) ayant participé au questionnaire, représentation en secteurs.

166 participants ont répondu à celui-ci, techniciens pour la majorité : œnologues-conseil (34%) et viticulteurs-vinificateurs (34%). La plupart de ces personnes sont en activité (entre 30 et 60 ans) et dégustent plusieurs fois par semaine. Ils rejoignent ainsi pleinement la définition de l'expert produit (Nicod *et al.*, 2006 ).

Comme premiers résultats, il est apparu que 99% des personnes interrogées considèrent qu'il y a une réalité à l'existence d'un caractère olfactif « presse » dans les vins rouges. Afin d'affiner la démarche, une série d'images choisies pour leur bonne représentativité des descripteurs odorants susceptibles d'être associés à ce concept ont été soumises au même panel. 16 descripteurs différents ont ainsi été proposés : poivron, fruits rouges, herbes aromatiques, pruneau, herbe coupée, cassis, champignon, menthe, empyreumatique, chou, géranium, métallique, fruits noirs, concombre, haricots verts, fleurs blanches (**Figure 58**).



**Figure 58.** Images utilisées pour illustrer les 16 descripteurs du questionnaire. Corrélation au caractère presse, rouge : positivement corrélé ; orange : tendance positive ; bleu clair : tendance négative ; bleu foncé : négativement corrélé.

D'après les résultats obtenus par test du  $\chi^2$  entre les réponses positives et négatives, les notes « fleur blanche », « empyreumatique », « menthe », « champignon » et « fruit rouge » (*bleu foncé*) ne peuvent être associées à l'odeur des vins de presse.

D'autres descripteurs tels que « pruneau », « cassis », « chou », « métallique », « fruits noirs » (*bleu clair*) tendent également à ne pas y être associés par leur nombre de réponses négatives; cependant, le niveau de significativité reste insuffisant à une conclusion formelle. Ils peuvent donc constituer, pour certains des participants, une nuance apte à décrire les vins rouges de presse. Le même type de conclusion peut être formulé pour les nuances de « géranium », de « métal » ou de « boîte de conserve », d'« herbes aromatiques » (*couleur orange*), avec une tendance inversée puisque la majorité des personnes interrogées tendent plutôt à les reconnaître comme des descripteurs pertinents.

En revanche, le poivron, l'herbe coupée et le haricot vert (*couleur rouge*) sont des notes évocatrices et porteuses d'un bon consensus par le panel interrogé. Ces descripteurs semblent donc ancrés dans l'imaginaire collectif et parfaitement conformes à l'idée que se font les professionnels de ce concept aromatique de « vins rouges de presse ». Il est aussi important de relever qu'ils appartiennent tous à la même famille aromatique du « végétal », telle que définie dans les vins (Noble *et al.* 1987). Les descripteurs libres formulés par les participants confirment l'association avec cette famille aromatique puisque ce sont majoritairement les termes « herbe sèche », « marc », « rafle » ou la catégorie elle-même (végétale) qui ont été formulés.

### 3. CARACTÉRISATION DE L'ESPACE SENSORIEL PROPRE AUX VINS DE PRESSE

Afin de compléter la mise en évidence par le questionnaire de l'espace sensoriel propre aux vins rouges de presse, une génération d'un vocabulaire libre a été réalisée par le *panel 7* sur deux séries de cinq vins (goutte et presse) de différents cépages (**Tableau 32**).

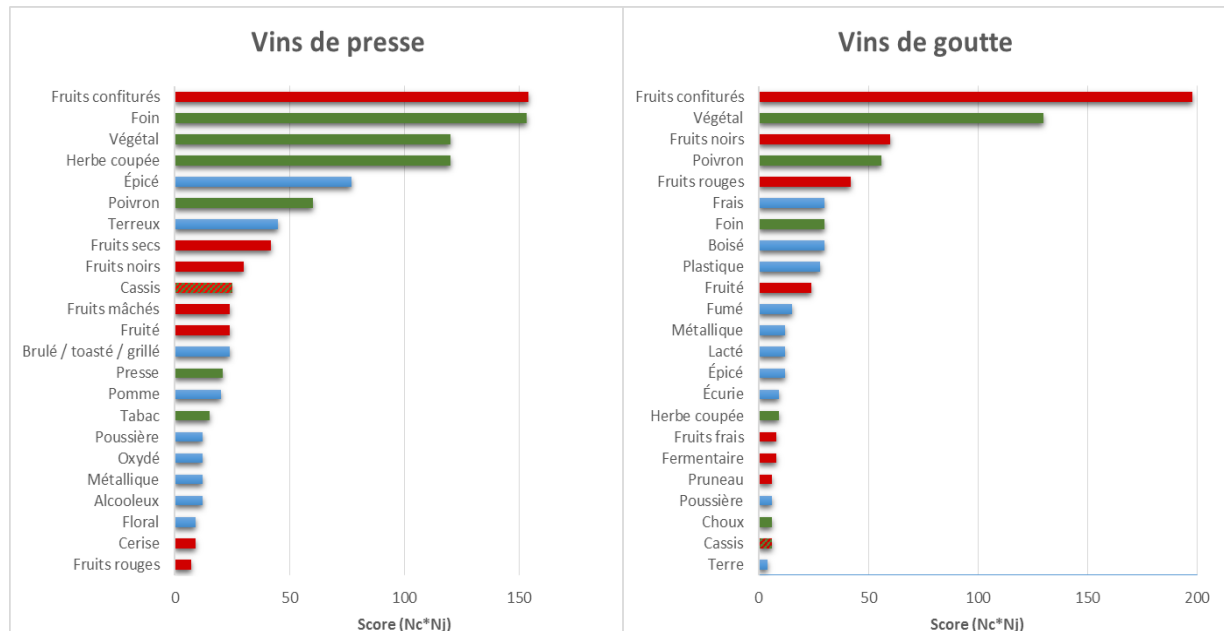
Ces vins ont été sélectionnés par plusieurs experts sur la base de leur netteté aromatique en accord avec les « types » recherchés. L'approche est similaire à celle ayant permis la définition sensorielle du caractère « végétal » des vins rouges développée dans le **chapitre 1**.

**Tableau 32. Vins de l'échantillonnage ayant permis la définition des espaces sensoriels propres aux vins de presse et aux vins de goutte.**

| Vins de goutte                             | Vins de presse   |
|--|--|
| Bordeaux DR14, CS                          | Pessac-Léognan PC 14, Merlot ( <i>P4ni</i> )                   |
| Pessac-Léognan PC14, CS                    | Pessac-Léognan PC 14, Merlot ( <i>P4ni</i> , sans <i>FML</i> ) |
| Pessac-Léognan PC14, M                     | Bordeaux DR14, CS ( <i>P4ni</i> )                              |
| Pessac-Léognan PC14, M ( <i>sans FML</i> ) | Côtes-du-Rhône 14, Syrah ( <i>P1+P2+P3</i> ) <i>ni</i>         |
| Pessac-Léognan HB14, M                     | Pessac-Léognan PC14; CS, ( <i>P4ni</i> )                       |

\* CS, Cabernet Sauvignon ; P1-4, palier de pression du pressurage ; ni, non inerté. Tous sont issus du millésime 2014.

Le nombre de descripteurs générés pour décrire les vins de presse était plus important que pour les vins de goutte. Ceci est une première démonstration de leur complexité aromatique, qui pourrait alors se rapporter à plusieurs nuances qui leur sont spécifiques. Ainsi, un premier regroupement a été effectué sur la base des synonymes en éliminant les termes hédoniques ou gustatifs (**Figure 59**).

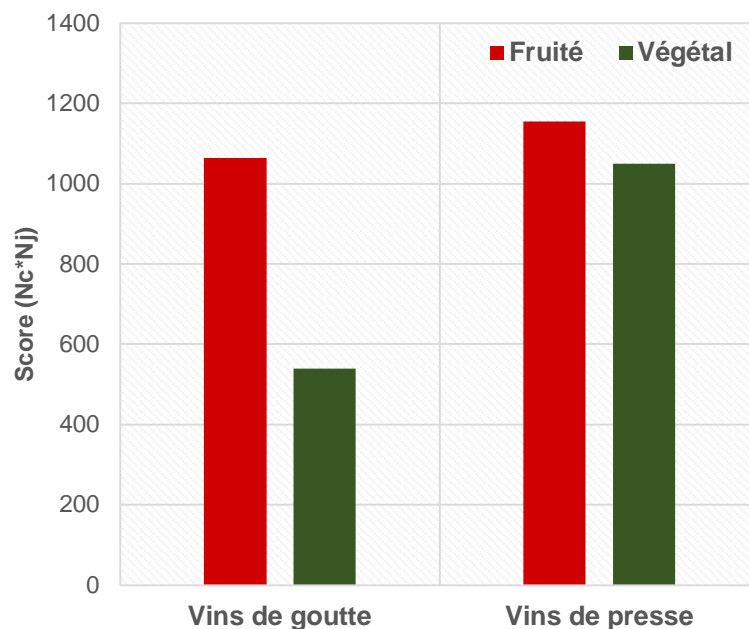


**Figure 59. Principaux descripteurs regroupés par synonymes et obtenus à partir d'une série de 5 vins rouges de presse et de 5 vins rouges de goutte. Le score représente le nombre de citations d'un terme (Nc) multiplié par le nombre de juges l'ayant employé (Nj).**



La composante aromatique majoritaire pour les deux types de vin est celle des « fruits confiturés », avec un score cependant inférieur pour les vins de presse. Toutefois, ces derniers ont une large prédominance des descripteurs apparentés à la famille du végétal : « foin », « végétal », « herbe coupée », « poivron ». Sont également associés à cet espace sensoriel, avec une importance moindre, des termes spécifiques tels que « presse », « fruits mâchés », « tabac », apparenté à un végétal sec de type « foin » ou encore « terreux ». Le cassis, dont l'odeur mêle à la fois une composante fruitée et une composante végétale, apparaît également avec un poids plus important. À noter que le terme « végétal » reste cependant le deuxième descripteur de choix dans les vins de goutte, mais avec un score relatif au fruité nettement inférieur. De plus, les descripteurs « fruits rouges » et « fruits noirs » sont moins représentés dans les vins de presse par rapport aux vins de goutte.

Cette prédominance des caractères végétaux dans les vins de presse a été confirmée par le regroupement des descripteurs en famille aromatique qui montre clairement l'importance de la composante végétale dans l'espace sensoriel des vins de presse par rapport à celui des vins de goutte (**Figure 60**).



**Figure 60.** Descripteurs « fruité » et « végétal » obtenus avec un regroupement par famille des termes générés à partir d'une série de 5 vins rouges de presse et de 5 vins rouges de goutte. Le score représente le nombre de citations d'un terme (Nc) multiplié par le nombre de juges l'ayant employé (Nj).

Les résultats obtenus à partir de ces deux regroupements montrent la différence entre les espaces sensoriels des vins de goutte et des vins de presse et confirment donc l'existence d'un espace sensoriel propre à ces derniers, sans lien apparent d'appartenance au cépage. Ils précisent aussi ses caractéristiques aromatiques, associées majoritairement à la famille du végétal, et incluant les odeurs de végétal frais et de végétal sec : « foin », « végétal », « herbe coupée », « poivron », mais aussi « presse » et « tabac ». Ajoutons que, là encore, cette définition mêle des termes qui se réfèrent à des concepts sensoriels (végétal, presse) et des descripteurs qui évoquent un objet odorant précis (herbe coupée, poivron, marc, herbe sèche, etc.)

## 4. CONCLUSION

Ce chapitre a donc permis d'attester que le concept sensoriel de « vin de presse » avait une réalité chez un grand nombre de professionnels puisque 99 % des 166 interrogés par le biais d'un questionnaire formulaient une opinion qui allait dans ce sens.

La définition des espaces sensoriels des vins de goutte et des vins de presse, par la présentation d'images évocatrices et par des évaluations sensorielles, a confirmé leurs différences. Elle a aussi permis de préciser que les nuances caractéristiques des vins de presse sont associées à la famille aromatique du végétal, incluant les odeurs de végétal frais et de végétal sec : « herbe coupée », « poivron », « rafle », « foin », « tabac », « herbe sèche » ou « marc ». Aussi, cette approche illustre la largeur de la palette aromatique des vins de presse, dont la plupart des nuances rejoignent cependant la famille du « végétal ». Elle montre ainsi le lien étroit qu'entretiennent les vins de presse avec cette famille aromatique et, par là même, explique que des vins de presse aient été jugés comme bons modèles de vins végétaux (**chapitre 1**).

Si l'on reprend la définition de Le Fur (2010), les vins de presse répondent entièrement à la notion de typicité, au sens où l'entendent les psychologues cognitifs dans les processus de catégorisation (Rosch *et al.* 1975), comme « *la convergence d'un espace produit préétablie sur des critères techniques [pressurage] et d'un espace sensoriel qui repose sur des critères purement sensoriels [espace sensoriel propre] et sur les représentations mentales [concept] que se forge un groupe humain de référence porteur d'un savoir-évaluer [professionnels de la filière]* ». En ce sens, nous pourrions alors considérer les vins de presse comme les constituants d'une typicité particulière. Cependant, comme cela a été énoncé (**Etude bibliographique, § 4**),

l'origine même du terme « typicité » fait référence à une distinction en lien avec le terroir (Salette, 1997 ; Barjolle, 1998). Ainsi, nous avons fait le choix de ne pas étendre cette notion de typicité et d'évoquer la spécificité des vins de presse sous la forme d'une catégorie sensorielle. À la suite de cela, il est apparu pertinent de chercher à caractériser les déterminants moléculaires qui la conditionnent ; ce travail a donc fait l'objet des chapitres suivants.

# **Chapitre 8. Approche analytique non ciblée de la catégorie aromatique des vins de presse**

## **1. INTRODUCTION**

Précédemment, nous avons pu démontrer l'existence d'une catégorie sensorielle spécifique des « vins de presse » et qui se définit par des tonalités aromatiques appartenant, pour la grande majorité, à la famille du végétal (**chapitre 1**).

À ce jour, très peu de travaux ont étudié l'expression aromatique des « vins de presse ». De plus, l'existence d'un espace sensoriel propre suggère une modification, par rapport aux vins d'égouttage, de l'équilibre entre les molécules odorantes qui composent ces vins. Sans exclure la possibilité qu'une part des différences olfactives puisse être expliquée par le changement de composition de la matrice non volatile (Robison *et al.*, 2009 ; Saenz-Navajas *et al.*, 2010), et en particulier de la teneur en polyphénols – telle la catéchine – dont l'influence sur la volatilité des arômes a été démontrée (Lorrain *et al.*, 2013), l'hypothèse d'une modification de la composition des composés volatils odorants a naturellement été envisagée.

Les travaux présentés dans ce chapitre avaient donc pour objectif de chercher à caractériser des marqueurs moléculaires susceptibles d'être impliqués dans ce caractère aromatique « presse ». Pour cela, une approche similaire à celle du **chapitre 4** a été appliquée par comparaison d'un vin de presse typique de la région bordelaise (*Bordeaux DR14, CS*) et de son vin de goutte correspondant.

## 2. APPROCHE PRÉLIMINAIRE DANS LA RECHERCHE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES VÉGÉTAUX ASSOCIÉS AUX VINS DE PRESSE

### 2.1. Analyse des extraits organiques bruts par CPG-O

Initialement, une approche par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O) a été effectuée à partir d'extraits bruts d'un vin de goutte et d'un vin de presse du même marc (*Bordeaux DR14, CS P4ni*). Ces vins, sélectionnés pour leurs odeurs contrastées en accord avec la définition de l'espace sensoriel des vins de presse et des vins de goutte (**chapitre 7**), ont été extraits en employant du pentane et du dichlorométhane comme solvants organiques.

L'analyse des extraits obtenus avec le *dichlorométhane* a mis en évidence un très grand nombre de zones odorantes (> 80 zones) sur une colonne capillaire de type Carbowax 20 M (BP20). Aucune des zones odorantes appartenant au registre aromatique des vins de presse n'a montré de différence d'intensité entre les deux extraits (goutte et presse). Le grand nombre de zones odorantes conduisait, de plus, à des coélutions qui compliquaient la discrimination et engendraient une perte notable d'information.

L'extrait organique obtenu avec le *pentane* a conduit à la perception dans les mêmes conditions d'analyses chromatographiques de moins de zones odorantes, plus facilement différenciables. En particulier, une zone odorante caractéristique du vin de presse avec des notes de « feuille de géranium » a été mise en évidence dans le vin de presse, qui n'était presque pas perçue dans l'extrait de vin de goutte. La correspondance de l'odeur et des indices de rétention linéaire expérimentaux (1399/978) et théoriques (1398/982) sur la colonne polaire (BP20) et une colonne moins polaire de type BPX5 ont permis d'associer cette zone odorante à la *(Z)-1,5-octadien-3-one* (**Etude bibliographique, § 1.3.5**), un composé très odorant possédant un seuil de détection olfactive très bas (0,9 ng/L) (Darriet *et al.* 2002). En outre, sous l'action d'une énone réductase de *S. cerevisiae*, ce composé est réduit au cours de la fermentation en *(Z)-5-octen-3-one* un composé présentant les mêmes caractéristiques olfactives, mais un seuil de détection nettement plus élevé (1 µg.L<sup>-1</sup>).

La difficulté de caractérisation d'autres composés volatils, en particulier dans la mise en évidence de différences perçues par CPG-olfactométrie entre les extraits organiques bruts des deux vins, nous a incités à mettre en œuvre des techniques de fractionnement, portant sur ces mêmes extraits ou sur les vins initiaux.

## 2.2. Fractionnement par CLHP semi-préparative

Le fractionnement par CLHP semi-préparative a été réalisé à partir des extraits organiques bruts concentrés du vin de goutte et du vin de presse issu du même marc. La procédure était similaire à celle décrite dans le **chapitre 4** pour les extraits de vins du modèle d'étude associés à une moindre maturité. Aussi, ces fractions ont fait l'objet d'une description sensorielle par un panel de 3 experts (**Tableau 33**).

**Tableau 33.** Description des fractions odorantes obtenues par CLHP du vin de goutte et du vin de presse correspondant (*Bordeaux DR14, CS*).

| N° de fraction | Descripteurs                           | N° de fraction | Descripteurs                            |
|----------------|--|----------------|---|
| 8              | Alcools supérieurs                     | 30             | Vert, fruité                            |
| 9              | Sucré, réglisse                        | 31             | Vert, solvant, phénols                  |
| 10             | Beurre rance, vinaigre, acide acétique | 32             | Chocolaté, tige de fleur, bois vert     |
| 11             | Lactique, beurre                       | 33             | Vert                                    |
| 12             | Sucre cuit, épicé                      | 34             | Poivron, feuille de géranium, vert      |
| 13             | Fromage                                | 35             | Poivron vert                            |
| 14             | Tige de fleur, lacté, solvant          | 36             | Vert, petit pois, soufré                |
| 15             | Solvant, épicé, fromage                | 37             | Fruité, synthétique, terpènes, variétal |
| 16             | Solvant, alcool                        | 38             | Fruité (Brandy), camphré                |
| 17             | Fruité, vert, épicé                    | 39             | Lourd                                   |
| 18-22          | Alcool isoamylique                     | 40             | Brandy                                  |
| 23             | Plastique                              | 41             | Poivré                                  |
| 26             | Caoutchouc                             | 42             | Poussiéreux                             |
| 27             | Caoutchouc, feuillu vert               | 43             | Vert, lourd, Brandy                     |
| 28             | Fruité exotique                        | 44             | Tabac                                   |
| 29             | Fruité, grillé, synthétique            |                |   |

\* Les fractions non mentionnées correspondent à une absence d'odeur.

Aucune différence significative n'apparaît dans les tonalités aromatiques des 50 fractions en comparaison de l'extrait du vin de goutte et du vin de presse. De plus, la reconstitution aromatique totale (RA) montre que la fraction reconstituée est bien moins complexe que l'extrait. Une interprétation selon laquelle la modification importante dans la représentativité des fractions pourrait provenir de la dégradation ou, éventuellement, de l'adsorption d'une partie des composés à l'origine des différences aromatiques de ces vins a pu être formulée. De fait, nous avons conclu que la technique de fractionnement par CLHP semi-préparative n'était pas apte à répondre à la problématique développée au cours de ce chapitre. Ainsi, une autre technique a été considérée.

### **3. APPROCHE DANS LA RECHERCHE DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES VÉGÉTAUX PAR LA DISTILLATION SOUS VIDE**

Le vin de goutte et le vin de presse ont été fractionnés par un système de distillation sous vide équipé de pièges à azote afin de récupérer le maximum de composés, même les plus volatils. L'abaissement de la pression (1 mbar) dans le ballon d'évaporation permet de diminuer la température d'ébullition des molécules et assurer leur volatilisation à température ambiante (20 °C) permettant ainsi de limiter les dégradations thermiques. Deux volumes de distillat ont été collectés : volume 1 (V1), correspondant aux composés aromatiques les moins volatils ; volume 2 (V2), correspondant aux composés volatils les plus volatils. Le troisième volume était constitué par le volume résiduel dans le ballon d'évaporation, noté Vr.

#### **3.1. Caractérisation olfactive des fractions de distillation et réalisation de tests sensoriels**

Les fractions de distillat ont fait l'objet d'une description olfactive par 5 personnes expérimentées (**Tableau 34**).

**Tableau 34. Caractérisation olfactive des différentes fractions obtenues par la distillation sous vide du vin de goutte et du vin de presse.**

| Fraction  | Odeurs                                 | Fraction  | Odeurs                                 |
|-----------|--|-----------|--|
| V1 Goutte | Fruits jaunes, confiture de mirabelles | V1 Presse | Fruits jaunes, confiture de mirabelles |
| V2 Goutte | Pomme verte, solvant                   | V2 Presse | Acétique, fruitée, végétal frais       |
| Vr Goutte | Caoutchouc, brûlé                      | Vr Presse | Marc, foin, « presse »                 |

Le **volume 1 (V1)** des deux vins apparaît semblable, il est caractérisé par des notes de fruits jaunes bien mûris de type mirabelle. Le **volume 2 (V2)** du vin de presse possède une note acétique un peu fruitée, fraîche et une tonalité végétale. Quant à celui du vin de goutte, il contient des notes de pomme verte et sent essentiellement le solvant. Le **volume résiduel (Vr)** du vin presse a une odeur de marc particulièrement marquée, il sent le foin et semble assez bien répondre à la définition du caractère « presse ». Au contraire, celui du vin de goutte rappelle le caoutchouc, le vin chauffé, presque un côté brûlé.

Ensuite, afin de confirmer que cette technique de séparation était bien adaptée à la problématique, des tests triangulaires ont été mis en œuvre et réalisés par le *panel 8*. D'une part, ils avaient pour objectif d'évaluer la capacité de la méthode à conserver les caractéristiques aromatiques du vin de presse et à maintenir les différences aromatiques entre celui-ci et le vin de goutte ; d'autre part, de confirmer la sélection des volumes d'intérêt (**Tableau 35**).

**Tableau 35. Résultats des tests triangulaires à partir des fractions de vins goutte/presse obtenues par distillation et de leur regroupement.**

| Échantillons comparés |                     | p-valeur | Différence |
|-----------------------|---------------------|----------|------------|
| Presse                | Presse reconstituée | 0,092    | -          |
| Goutte reconstituée   | Presse reconstituée | 0,0037   | **         |
| V1 Goutte             | V1 Presse           | 0,038    | *          |
| V2 Goutte             | V2 Presse           | 0,00017  | ***        |
| Vr Goutte             | Vr Presse           | 0,00088  | ***        |

\* Différence significative au seuil de 5 % (\*), 1 % (\*\*) et 0,1 % (\*\*\*)



L'absence d'une différence significative entre le vin de presse initial et le vin de presse reconstitué ( $p\text{-valeur} = 0,092$ ) confirme que cette approche de fractionnement est respectueuse de l'arôme du vin et engendre peu ou pas de perte de composés volatils, que ce soit par des phénomènes d'évaporation ou de dégradation. De plus, la différence significative au seuil de 1 % entre les vins de goutte et de presse reconstitués après un fractionnement, montre que cette technique permet de maintenir les caractéristiques olfactives à l'origine de leur différence. Dans un même temps, elle valide aussi le choix de notre modèle d'étude puisque l'odeur du vin de goutte apparaît bien différente de celle du vin de presse.

La comparaison respective des volumes obtenus à partir du vin de goutte et du vin de presse montre qu'ils diffèrent tous avec un niveau de significativité inférieur au seuil de 5 %. Toutefois, ces différences se trouvent particulièrement prononcées dans les volumes Vr et V2 (seuil inférieur à 0,1 %). Paradoxalement, les différences aromatiques entre le vin de goutte et le vin de presse semblent trouver leur origine dans des composés de volatilité bien différente, allant de la faible volatilité (Vr) à la forte volatilité (V2). Cette analyse rejoint alors nos premières hypothèses quant à la complexité de la catégorie « vin de presse », dont l'origine et les nuances proviennent de la variation simultanée de plusieurs composés odorants.

Du fait de leurs contrastes aromatiques entre les deux modalités, les volumes Vr et V2 ont donc servi aux investigations futures.

### **3.2. Caractérisation des composés volatils associés aux fractions de distillations par CPG-O et MDCPG-O-SM**

Après avoir été extraites au dichlorométhane, les fractions de distillation V2 et Vr ont fait l'objet d'approches chromatographiques couplées à l'olfactométrie. Les extraits de fraction ont d'abord été caractérisés par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O) par 3 personnes, sur la même colonne capillaire (Carbowax ou BP20) que celle utilisée pour la caractérisation des extraits bruts. L'objectif était de mettre en lumière des zones odorantes d'intérêt, dont les nuances végétales, en lien avec celles définies au **chapitre 7**, varient d'un point de vue qualitatif ou quantitatif entre les deux modalités (vin de goutte et vin de presse). L'identification des composés associés à ces zones a ensuite été considérée par l'utilisation d'un système de chromatographie multidimensionnelle couplé à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse (MDCPG-O-SM).

### 3.2.1. Caractérisation de la fraction V2

#### 3.2.1.1. Caractérisation par CPG-O

L'analyse par CPG-O de la fraction V2 a conduit au repérage d'un certain nombre de zones odorantes dont les tonalités sont en accord avec celles recherchées. Plusieurs d'entre elles présentent un intérêt par leur diminution d'intensité ou par l'absence de leur perception dans le vin de goutte. L'appréciation des termes olfactifs et de leurs intensités perçues a reposé sur un consensus établi après concertation entre 3 juges. 5 zones odorantes d'intérêt ont ainsi été retenues sur la base de ces critères (**Tableau 36**).

**Tableau 36. Principales zones odorantes végétales (fraction V2) déterminées par CPG-O.**

| ILR  | Descripteurs                          | Intensité perçue<br>(presse) | Intensité perçue<br>(goutte) | Composé<br>associé  |
|------|---------------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------|
| 1359 | Herbacé                               | ++                           | ++                           | Hexanol             |
| 1345 | Herbacé, vert                         | +                            | N.D.                         | <b>ZO 1</b>         |
| 1390 | Herbacé                               | ++                           | ++                           | (Z)-3-Hexenol       |
| 1444 | Végétal, petit pois                   | ++                           | ++                           | IPMP                |
| 1474 | Menthe, herbe, frais                  | +++                          | +++                          | N.D.                |
| 1527 | Cosse de petit pois                   | ++                           | +++                          | sBMP <sup>(t)</sup> |
| 1538 | Végétal, lourd                        | ++                           | N.D.                         | <b>ZO 2</b>         |
| 1546 | Poivron vert                          | ++++                         | ++++                         | IBMP                |
| 1642 | Herbacé, floral                       | ++                           | +                            | <b>ZO 3</b>         |
| 1694 | Légumes cuits, épinard, transpiration | ++++                         | +++                          | <b>ZO 4</b>         |
| 1738 | Concombre, légumes cuisinés, épinard  | +++                          | +++                          | N.D.                |
| 1748 | Menthé, anisé                         | ++++                         | +++                          | <b>ZO 5</b>         |

\* ILR, indice linéaire de rétention sur BP20. Évaluation de l'intensité odorante entre parenthèses : +++++ très forte, +++ forte, ++ moyenne, + faible. <sup>(t)</sup> tentative

Le composé associé à la **zone odorante 4 (ZO 5)** à l'odeur « menthée, anisée » a pu être déterminé par comparaison de l'odeur et des indices de rétention linéaires théoriques (1734/1247) et expérimentaux (1748/1251) sur colonne BP20 et BPX5. Il s'agit de la **3-méthyl-2,4-nonanedione (MND)** identifiée pour la première fois dans les vins rouges par Pons *et al.*, (2008). C'est une molécule à fort pouvoir odorant impliquée dans des notes de figue, pruneau caractéristique des vins rouges vieilliss prématurément. Son seuil de détection est particulièrement bas : 16 ng/L en solution modèle. Ces caractéristiques olfactives varient fortement selon la concentration. En effet, à faible concentration (100 ng/L), elle présente une odeur menthée tandis qu'elle sent la prune à 1 µg/L et l'anis à 10 µg/L.

### 3.2.1.2. Identification des composés associés aux zones odorantes d'intérêt par MDCPG-O-SM

D'autres zones odorantes d'intérêt non identifiables sans ambiguïté avec les ILR ont nécessité l'utilisation de la CPG-Multidimensionnelle.

La **zone odorante 1 (ZO 1)**, décrite comme « herbacé, verte » a pu être associée à la **6-méthyl-5-hepten-2-one** par la correspondance des indices linéaires de rétention, des spectres de masse théoriques et expérimentaux (**Figure 61**) et par l'injection du standard commercial pur.

Ce composé carbonyle est issu de la dégradation des norisoprénoides. En 2005, Lewinsohn *et al.* suggèrent que celle-ci est réalisée par une enzyme, la « caroténoïd cleavage dioxygénase » (CCD). C'est un composant majoritaire de la tomate qui dérive du lycopène et qui contribue à son odeur (Buttery *et al.* 1971 ; 1988). Cette molécule a aussi été identifiée dans le jus des baies de cassis (Varming *et al.*, 2004) et dans les eaux-de-vie (Le dauphin *et al.*, 2006). Elle a récemment été identifiée dans les vins rouges où elle est décrite comme contribuant à accroître les nuances végétales à partir d'une concentration de 2 µg/L (Riboul, 2013).

La **zone odorante 2 (ZO 2)**, à l'odeur « végétale », « croupie » a pu être associée au **(Z)-4-hepten-1-ol** par confrontation du spectre de masse obtenu avec la banque de données NIST (**Figure 62**) et par l'injection du produit commercial pur.

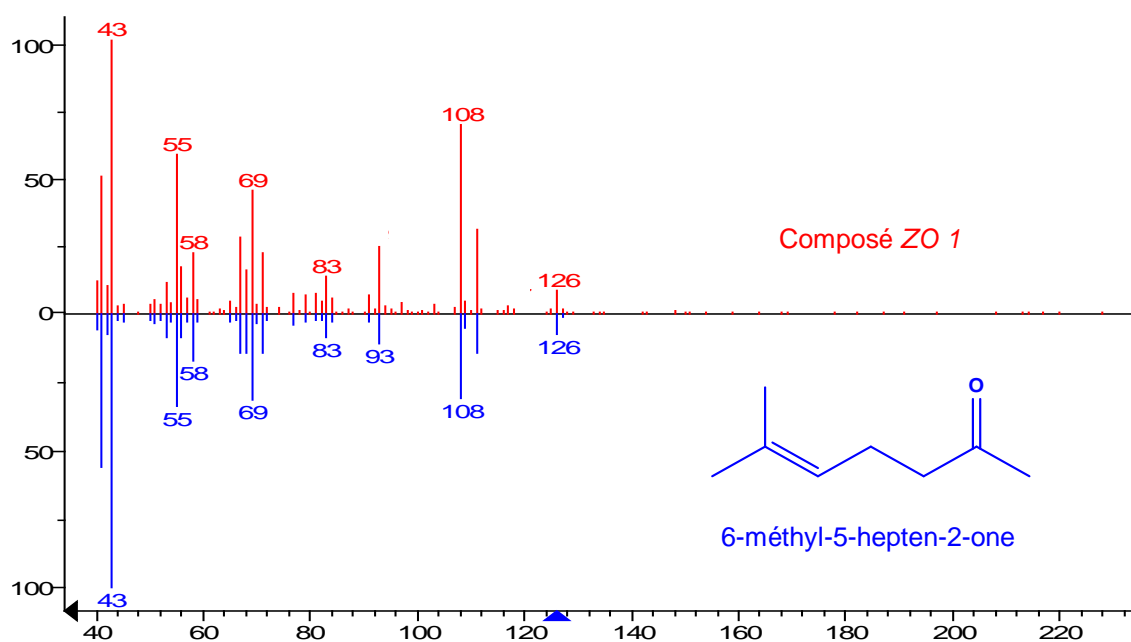


Figure 61. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 1 avec le spectre théorique de la 6-méthyl-5-hepten-2-one.

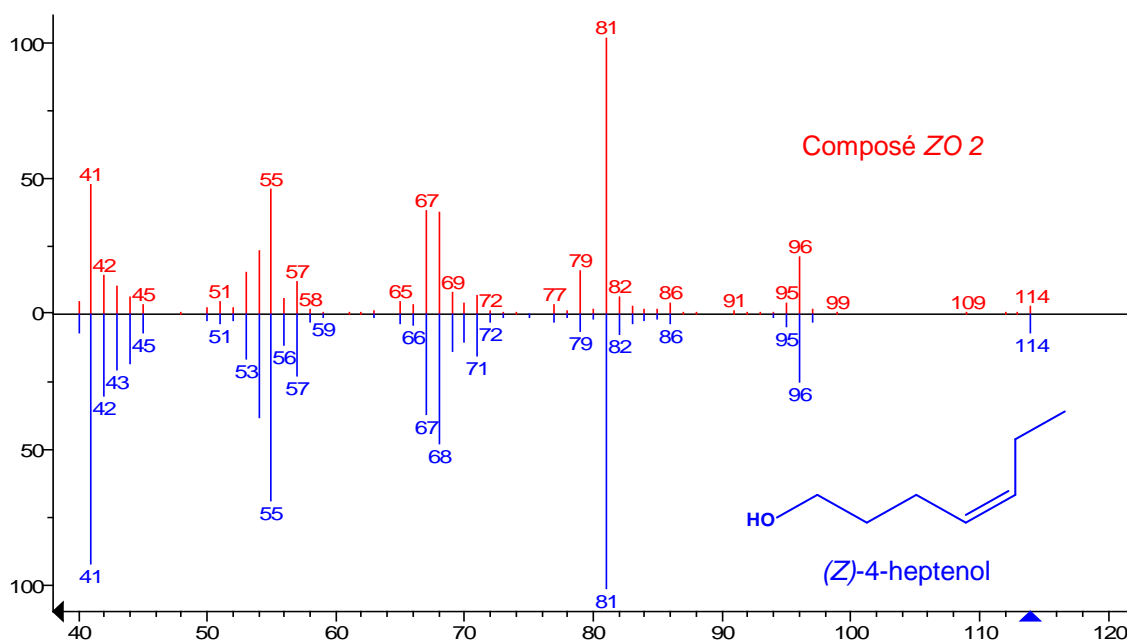
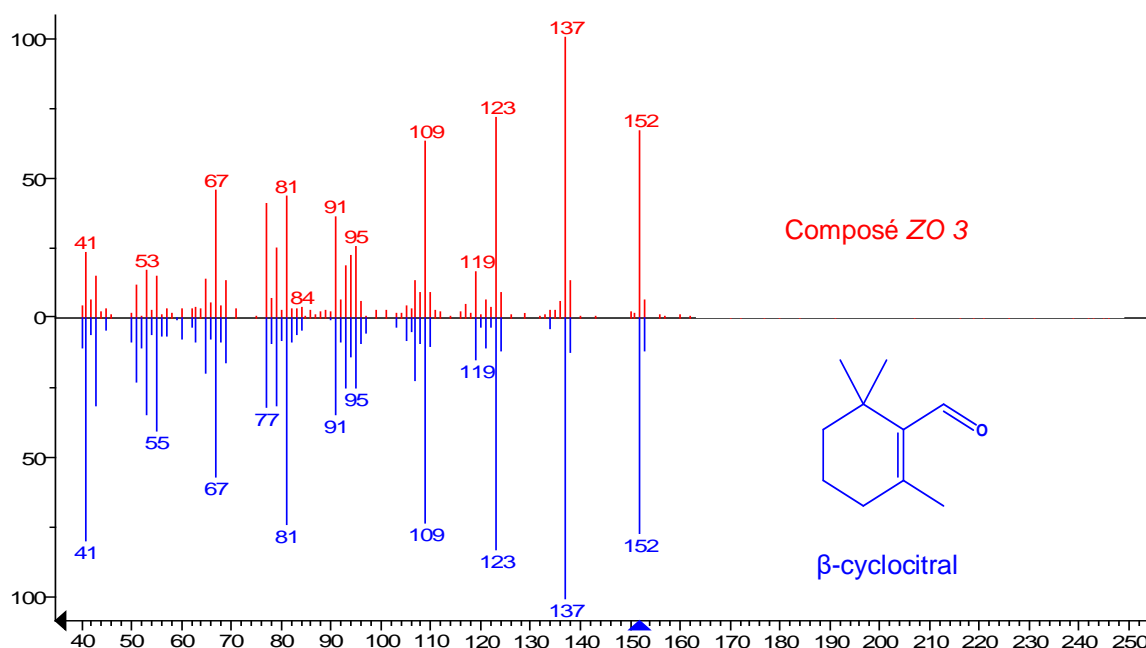


Figure 62. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 2 avec le spectre théorique du (Z)-4-hepten-1-ol.

Le (Z)-4-heptenol a été mentionné dans l'huile essentielle de *Gardenia (Rubiaceae)* (Buchbauer *et al.*, 1996). Vacher *et al.* (2008) identifient son diastéromère, le (E)-4-hepten-1-ol, qu'ils décrivent avec une odeur végétale dans les vins rouges de Pinot noir atteints par la pourriture. Le 4-heptenol a également été retrouvé dans les whiskys, où il est responsable des nuances vertes (Wanikawa *et al.*, 2002). Les auteurs ne précisent pas duquel isomère il s'agit, mais ils précisent que ce composé est issu la dégradation oxydative des lipides membranaires par la lipoxygénase. À ce jour et à notre connaissance, le (Z)-4-heptenol n'a pas fait l'objet de mentions particulières dans les vins.

Le composé associé à la **zone odorante 3 (ZO 3)**, à l'origine de son odeur herbacée et florale, a pu être associé au  $\beta$ -cyclocitral, par confrontation des spectres de masse et injection du produit commercial pur (**Figure 63**).



**Figure 63.** Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 3 avec le spectre théorique du  $\beta$ -cyclocitral.

Ce composé, dont le seuil de détection olfactive dans l'eau a été estimé à 5  $\mu\text{g/L}$  (Buttery, 1993), est un produit de dégradation oxydative des caroténoïdes. Dans le vin de Porto, Silva Ferreira *et al.* (2008) montrent qu'il est généré à partir de l'oxydation du  $\beta$ -carotène. Plus récemment, Bordiga *et al.* (2013) révèlent, par une analyse en chromatographie intégralement bidimensionnelle, sa présence et son augmentation au cours du vieillissement des vins rouges

de Nebbiolo. Le même type d'analyse a aussi permis d'attester de sa présence dans les vins rouges australiens (Robinson *et al.*, 2011b).

La **zone odorante 4 (ZO 4)** perçue comme « légumes cuits », « épinards », « transpiration » en première dimension est liée à la présence d'une molécule à l'odeur de « pomme de terre bouillie », « chou ». Cette odeur est caractéristique du **méthionol**, ce qui a été confirmé par comparaison des spectres de masse de la base de données NIST et des indices de rétention obtenus sur les deux colonnes. Ce composé, formé à partir du catabolisme de la méthionine par *S. cerevisiae* ou *Oenococcus oeni* (Moreira *et al.*, 2002 ; Ugliano & Moio, 2005 ; Vallet *et al.*, 2008 ; 2009) est l'un des composés majeurs associés aux odeurs de réduction des vins (Ribéreau Gayon *et al.*, 2012).

### 3.3. Caractérisation de la fraction Vr

#### 3.3.1. Caractérisation par CPG-O et MDCPG-O

La caractérisation par CPG-O de l'extrait organique du volume résiduel de vin après la distillation a révélé plusieurs zones odorantes apparentées à des odeurs végétales (**Tableau 37**).

**Tableau 37. Principales zones odorantes végétales (fraction Vr) déterminées par CPG-O. ILR, indice linéaire de rétention sur BP20.**

| ILR  | Descripteur          | Intensité perçue (presse) | Intensité perçue (goutte) | Composé associé |
|------|----------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| 1227 | Végétal, herbacé     | +++                       | +                         | <b>2</b>        |
| 1438 | Asperges, petit pois | +++                       | +++                       | IPMP            |
| 1458 | Légumes cuisinés     | ++++                      | +++                       | <b>1</b>        |
| 1534 | Poivron vert         | ++++                      | ++++                      | IBMP            |
| 1747 | Géranium             | +++                       | +++                       | N.D.            |
| 1753 | Végétal              | +++                       | +                         | <b>3</b>        |

\* ILR, indice linéaire de rétention sur BP20. Évaluation de l'intensité odorante entre parenthèses : +++++ très forte, +++ forte, ++ moyenne, + faible.

Seulement trois zones odorantes semblaient exprimer une variation d'intensité entre les deux modalités. La première ou **ZO 1**, à l'odeur de légumes cuisis a pu être associée au méthional par comparaison des indices linéaires de rétention théoriques et expérimentaux sur colonne polaire (BP20) et apolaire (BPX5). Ce composé est produit par une dégradation de Strecker de la méthionine en présence de composés dicarbonylés (o-quinone) ou dérive directement de la peroxydation chimique du méthionol. Il participe ainsi à l'odeur des vins blancs et rouges oxydés (Escudero *et al.*, 2000 ; Bueno *et al.*, 2016) ou des vins liquoreux de pourriture noble (Sarrazin *et al.*, 2007). L'hypothèse de sa formation par oxydation du méthionol (**ZO 4**, § 3.2.1.2) au cours du pressurage a donc été envisagée.

### 3.3.2. Tentative d'identification des composés associés aux zones odorantes d'intérêt par MDCPG-O-SM

Enfin, deux autres zones odorantes (**ZO2** et **ZO3**) aux odeurs végétales, herbacées ou d'épinards ont pu être identifiées avec une intensité nettement supérieure dans la fraction du vin de presse. Le spectre de masse obtenue pour la **ZO2** montre un bon niveau de correspondance avec la **3-hexen-2-one** (Figure 64).

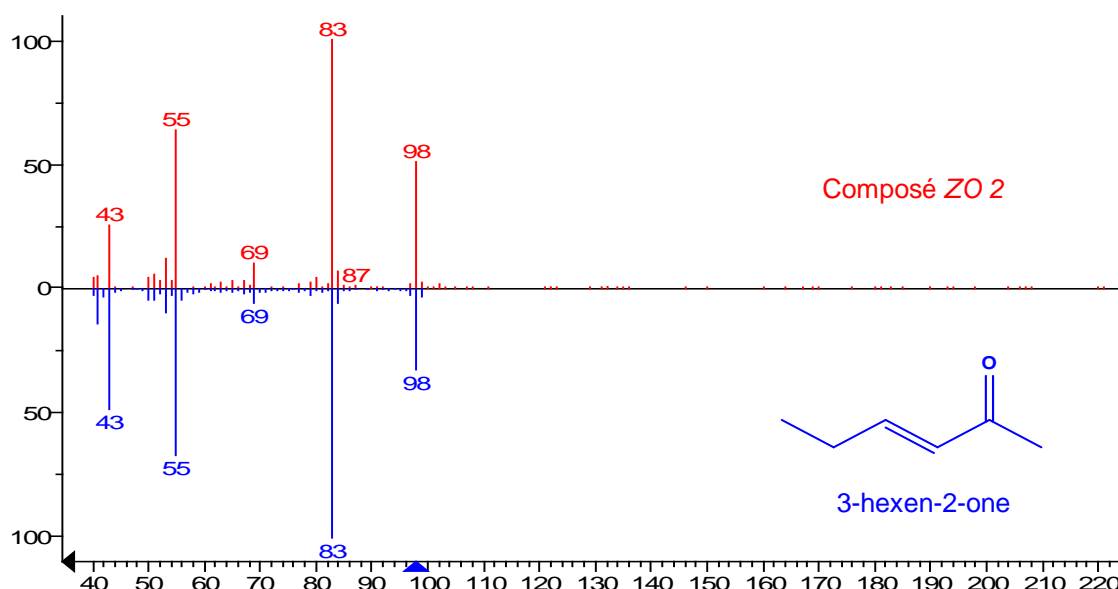


Figure 64. Comparaison du spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) du pic chromatographique associé à la zone odorante 2 avec le spectre théorique du 3-hexen-2-one.

De même, les indices de rétention linéaire obtenus sur BP 20 (1227) et BPX5 (820) sont relativement proches de ceux rencontrés dans la littérature : 1218 et 834 respectivement. Toutefois, le manque de données disponibles sur cette molécule et l'absence de standard commercial ne permet pas de valider cette identification, ni même de préciser duquel diastérisomère il s'agit.

Enfin, s'agissant de la **ZO 3**, aucun spectre de masse n'a pu être obtenu ; de même qu'aucune hypothèse particulière n'a pu être formulée sur la base de l'odeur et des indices de rétention sur colonne BP20 (1753) et BPX 5 (1248).

### 3.4. Conclusion

En conclusion, parmi les différents composés d'intérêt susceptibles d'être impliqués, par leurs notes aromatiques, dans les tonalités aromatiques des « vins de presse », ceux identifiés formellement dans le vin ainsi que dans les fractions V2 et Vr, ont été résumés (**Tableau 38**).

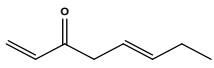
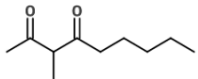
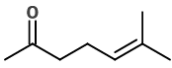

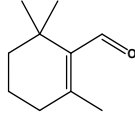
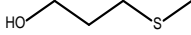

## 4. QUANTIFICATION DES COMPOSES IDENTIFIES

Afin de confirmer la réalité du lien entre la variation d'intensité perçue par CPG-O et la concentration des composés identifiés dans les extraits, leurs teneurs ont été mesurées par SPME-CPG-SM dans les deux vins initiaux ayant permis leur identification selon la *méthode 3*.

La **6-méthyl-5-hepten-2-one** a une concentration qui évolue d'un facteur 3 environ, passant de  $0,55 \pm 0,05$  µg/L dans le vin de goutte à  $1,68 \pm 0,13$  µg/L dans le vin de presse. De même, la concentration en **(Z)-4-heptenol** est pratiquement doublée entre ces deux modalités :  $6,56 \pm 0,16$  µg/L dans le vin de goutte à  $12,07 \pm 1,04$  µg/L dans le vin de presse (**Figure 65**).



**Tableau 38. Molécules odorantes identifiées dans les fractions V2 et Vr et susceptibles d'être associées au caractère « presse » des vins rouges.**

| Molécule                 | Identification | Seuil de détection        | Description olfactive         | Structure   |
|--------------------------|----------------|---------------------------|-------------------------------|---|
| (Z)-1,5-octadien-3-one   | ILR, IS        | 0,9 ng/L <sup>1</sup>     | Feuille de géranium           |    |
| 3-méthyl-2,4-nonanedione | ILR, IS        | 16 ng/L <sup>2</sup>      | Menthé, prune, anisé          |    |
| 6-méthyl-5-hepten-2-one  | ILR, SM, IS    | 2 µg/L <sup>3</sup>       | Végétal, métallique           |    |
| (Z)-4-heptenol           | ILR, SM, IS    | -                         | Végétal, croupie              |    |
| β-cyclocitral            | SM, IS         | 5 µg/L <sup>4</sup>       | Vert frais, floral            |  |
| Methionol                | ILR, SM        | 1,2-4,5 mg/L <sup>4</sup> | Pomme de terre bouillie, chou |  |
| Methional                | ILR, SM        | 0,5 µg/L <sup>5</sup>     | Pomme de terre bouillie       |  |

\* ILR, indice linéaire de rétention sur BP20 (1D) et BPX5 (2D) comparé avec ceux de la littérature ; IS, injection d'un standard commercial pur ; SM, spectre de masse obtenu par impact électronique (70 eV) et comparé avec la librairie NIST. Seuil de détection olfactive dans l'eau : <sup>1</sup> Darriet et al. (2002) ; Buttery et al. (1993). Seuil de détection olfactive en solution modèle : <sup>2</sup> Pons et al. (2008) ; <sup>5</sup> Escudero et al. (2000). Seuil de détection olfactive dans le vin : <sup>3</sup> Riboul et al. (2012) ; <sup>4</sup> Mestre et al. (2000).

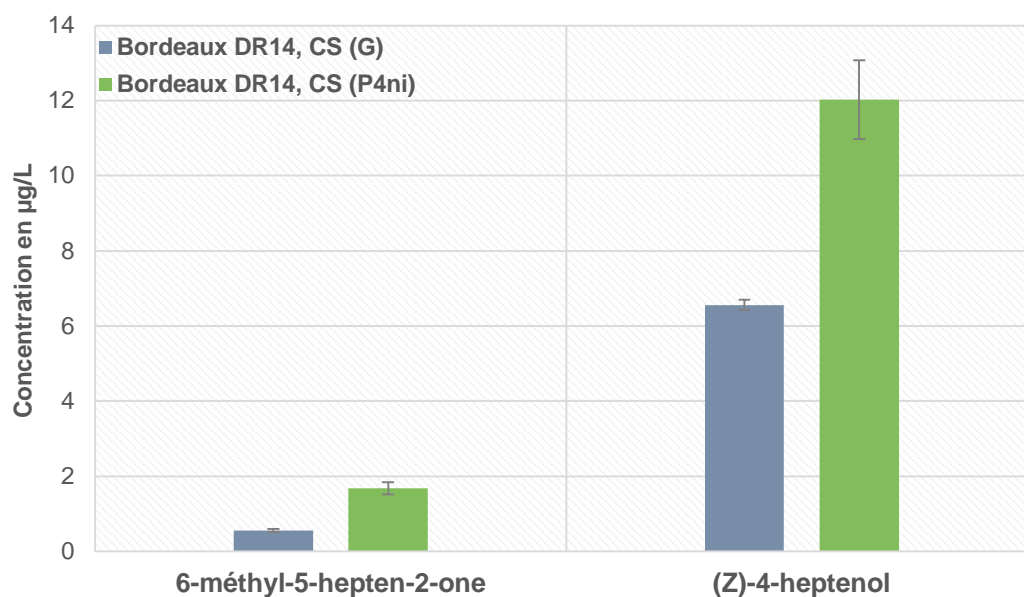


Figure 65. Concentrations (µg/L) en 6-méthyl-5-hepten-2-one et en (Z)-4-heptenol mesurées dans le vin de goutte et le vin de presse ayant permis leur identification (Bordeaux DR14, CS).

L'analyse de ces deux molécules confirme donc les observations olfactives et montre une nette augmentation de ces composés dans le vin de presse par rapport au vin de goutte. Ces résultats appuient, une nouvelle fois, l'hypothèse selon laquelle ces composés seraient susceptibles d'avoir une contribution dans la différence aromatique perçue entre les deux vins modèles.

À l'inverse, les teneurs en *β-cyclocitral* et en *méthional* et dans chacune des modalités contredisent les observations olfactives puisque de très faibles variations sont observées entre le vin d'égouttage et le vin de presse :  $0,52 \pm 0,01$  contre  $0,68 \pm 0,01$  µg/L pour le premier ;  $1,54 \pm 0,03$  contre  $1,76 \pm 0,02$  µg/L pour le second. La tendance est même inversée pour le *méthionol* ( $6,5 \pm 0,04$  mg/L et  $2,2 \pm 0,1$  mg/L) entre le vin de goutte et le vin de presse, respectivement. De plus, l'analyse quantitative de ces composés dans plusieurs vins de goutte et vins de presse n'a montré aucune tendance particulière quant à leur évolution selon ce facteur technologique (résultats non communiqués). Ainsi, ces trois composés n'ont été pas considérés pour la suite de notre étude.

En ce qui concerne les méthoxypyrazines, Kotseridis *et al.* 1999 indiquent un effet d'augmentation des concentrations en IBMP entre deux vins de goutte et deux vins de presse (Merlot et Cabernet franc), les concentrations dans ces derniers n'excédant toutefois pas son seuil de détection olfactive. En outre, Roujou de Boubée (2000) montre que les teneurs sont

relativement stables au cours du pressurage. De même, nos observations par CPG-O ne traduisent pas de réelles différences d'intensité et, de plus, aucune de méthoxypyrazines n'a pu être détectées dans les deux vins de presse de Merlot (**chapitre 3**) apparenté aux « bons modèles » de vins végétaux ; le bon niveau de maturité des raisins et la capacité de production du cépage en étant probablement l'explication. Par conséquent, ces molécules n'ont pas été prises en considération pour la suite de cette étude.

Enfin, la quantification des autres marqueurs moléculaires mis en lumière a été, quant à elle, réalisée au cours des chapitres suivants.

## 5. ÉVALUATION SENSORIELLE DE LA 6-METHYL-5-HEPTEN-2-ONE ET DU (Z)-4-HEPTENOL

### 5.1. Estimation de l'impact de la 6-methyl-5-hepten-2-one par un test triangulaire

S'agissant de la *6-methyl-5-hepten-2-one* mesurée à des concentrations 3 fois supérieures dans le vin de presse ayant assuré son identification par rapport aux vins de goutte ( $0,55 \pm 0,05 \mu\text{g/L}$  et  $1,68 \pm 0,13 \mu\text{g/L}$  respectivement), les tests préliminaires à la mise en œuvre du seuil de détection olfactive ont montré une absence d'impact olfactif à ces deux concentrations. Afin de confirmer cette observation, un test triangulaire a donc été réalisé dans un vin rouge de Bordeaux supplémenté à une concentration de  $2,5 \mu\text{g/L}$  par le *panel 9* (**Tableau 39**).

**Tableau 39.** Résultat du test triangulaire obtenu à partir d'une addition de  $2,5 \mu\text{g/L}$  de 6-méthyl-5-hepten-2-one dans le vin rouge (témoin).

| Échantillons comparés |                                     | Réponse + | Réponse - | p-valeur | Différence |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|----------|------------|
| Témoin                | Témoin + $2,5 \mu\text{g/L}$ MetHep | 5         | 13        | 0,77     | -          |

À l'inverse de Riboul *et al.* (2013) qui notent une contribution sensorielle de ce composé sur les nuances végétales des vins rouges à partir de 2 µg/L, nous n'observons aucune différence significative entre les échantillons à 2,5 µg/L. De plus, l'analyse de plusieurs vins de presse sur différents millésimes a révélé que la teneur n'excédait pas 1,88 µg/L. Ainsi, malgré l'intérêt que présente cette molécule comme marqueur chimique potentiel, elle ne peut être liée à la typicité des vins de presse.

## 5.2. Détermination du seuil de détection olfactive du (Z)-4-heptenol

À l'inverse de la 6-méthyl-5-hepten-2-one, les tests préliminaires d'addition du (Z)-4-heptenol aux concentrations mesurées dans le vin ont montré l'intérêt de préciser son impact dans les vins rouges. Le seuil de détection olfactive a été déterminé par le *panel* 9 à partir d'une série croissante de 5 concentrations ajoutées (2,5/5/10/20/40/80 µg/L) dans un vin rouge de Bordeaux. La valeur du seuil de détection olfactive, estimée par la méthode BET, est de 12,6 µg/L avec des seuils individuels minima à 1,7 µg/L (**Figure 66**). Cette valeur correspond à une concentration similaire à celle déterminée dans le vin de presse ayant assuré son identification (**chapitre 7**). À l'inverse du vin de goutte dont la concentration est de  $6,56 \pm 0,16$  µg/L, le (Z)-4-heptenol semble impacter l'arôme des vins de presse en masquant les notes fruitées, apportant une lourdeur aromatique et des nuances végétales ; tandis qu'à forte concentration (40 µg/L) son odeur évoque clairement l'eau croupie et le poisson.

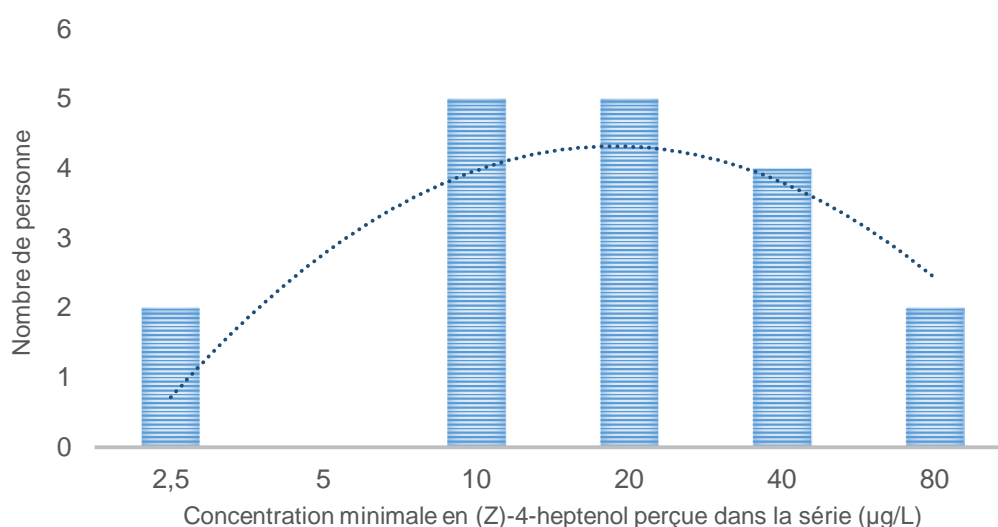


Figure 66. Nombre de personnes en fonction de la concentration minimale en (Z)-4-heptenol (µg/L) perçue dans un vin rouge de Bordeaux.

## **6. CONCLUSION**

Une première approche analytique des vins de presse a donc été réalisée au cours de ce chapitre dont la démarche présentait, initialement, un bon parallélisme avec celle employée au cours du **chapitre 4**. Toutefois, le fractionnement par CLHP semi-préparative, qui avait permis de mettre en exergue des fractions d'intérêts en lien avec la maturité des raisins, a ici montré ses limites. Ainsi, une autre méthode de fractionnement par distillation sous vide a été employée. La validation sensorielle a démontré que cette méthode était à la fois respectueuse de l'arôme global des vins rouges, mais qu'elle permettait aussi d'isoler des fractions présentant de nettes différences aromatiques entre le vin de presse et le vin de goutte. Aussi, deux fractions d'intérêt de volatilité éloignée ont pu être mises en évidence ; cela soulignant que les différences aromatiques entre les deux vins n'étaient probablement pas le fait d'un unique composé, mais plutôt d'une combinaison de composés de nature diverse.

Cette suggestion a été confirmée par la mise en évidence de plusieurs zones odorantes caractéristiques par CPG-O dont une partie des composés associés ont pu être identifiés. Pour certains d'entre eux tel que la 6-méthyl-5-hepten-2-one et le (Z)-4-heptenol, la quantification a confirmé l'augmentation de leurs concentrations dans le vin de presse par rapport au vin de goutte initial.

Malgré leur différence structurale, ces divers composés présentent des analogies quant à leur origine : dégradation oxydative des caroténoïdes pour la 6-méthyl-5-hepten-2-one, dégradation oxydative des lipides membranaires pour les autres [(Z)-4-heptenol, (Z)-1,5-octadien-3-one, etc.]. Cela nous a poussés à nous interroger sur une considération plus large des molécules qui sont également susceptibles de dériver de cette dernière origine, à savoir les alcools en C6, analysés au cours du **chapitre 11**, selon des aspects technologiques développés, mais également de composés carbonylés dont l'étude a constitué les deux chapitres suivants.

# **Chapitre 9. Approche analytique ciblée de la catégorie aromatique des vins de presse**

## **1. INTRODUCTION**

L'approche analytique non ciblée développée dans le chapitre précédent a mis en évidence une relation entre le niveau de pressurage des marcs et l'accroissement des teneurs de certains composés volatils (composés carbonylés, alcools). Certains de ces composés [aldéhydes et d'alcools (C6, C9)] sont décrits dans la littérature comme provenant de la dégradation oxydative de lipides membranaires susceptible de se produire, pendant les opérations préfermentaires, lors du pressurage des raisins (Crouzet *et al.* 1986). Ils confèrent au moût des odeurs herbacées caractéristiques (**Etude bibliographique, § 1.3.2**). Rappelons que l'intensité de la trituration et du foulage des baies, en présence d'oxygène, constitue un facteur déterminant de la formation de ces composés (Ribéreau-Gayon, 2012). Aussi, l'hypothèse d'une formation accrue de ces composés [aldéhydes et d'alcools (C6, C9)] par dégradation oxydative des acides gras insaturés (acide linoléique, acide linolénique) a été envisagée au cours du pressurage des marcs de raisins noirs. Toutefois, avec la situation de la vinification en rouge, le pressurage étant conduit après fermentation alcoolique, les mécanismes de formation de ces composés concernent *a priori* exclusivement des réactions chimiques même si la persistance d'activités lipoxygénases a été évoquée en milieu alcoolique (Wheelan *et al.*, 1997).

De fait, dans ce chapitre, l'analyse des composés carbonylés, mono ou poly insaturés, dans les vins de goutte et vins de presse a été envisagée avec le développement d'une méthode de quantification par SPME-CPG-SM. Le seuil de détection olfactive relativement bas de ces composés (de l'ordre du ng/L pour la plupart) et l'identification de certains comme de potentiels marqueurs aromatiques de l'odeur végétale des vins issus de raisins manquant de maturité (**chapitre 4**), a aussi affirmé ce choix. Ainsi, ont été permis l'évaluation de leurs teneurs dans des vins de presse et de goutte, tout en intégrant des dimensions de maturité, variétales et de caractéristiques de millésimes.

## 2. DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE SÉRIES D'ALKANALS, ALKENALS, ALKADIENALS ET ALKADIENONE PAR SPME-CPG-SM

La quantification des composés carbonylés dans les vins, et particulièrement des aldéhydes, se confronte souvent à des difficultés de réalisation. Culleré *et al.*, (2004), l'expliquent par deux problèmes principaux qui concernent la matrice vin : la présence importante d'alcool qui change le comportement de la phase organique par rapport à l'eau ; la présence d'un grand nombre de composés carbonylés, parfois en concentration importante comme l'acétaldéhyde (> 300 mg/L), l'acide pyruvique (> 500 mg/L) ou le 3-hydroxybutanone-acetoin (> 200 mg/L). Saison *et al.*, (2009) expliquent, de la même façon, que les difficultés de quantification de ces molécules dans la bière ont pour origine leur faible volatilité, leur concentration extrêmement faible, leur réactivité importante et l'abondance des esters et des alcools dans le milieu. Ainsi, la plupart des méthodes de quantification proposées s'appuient sur l'utilisation d'un agent de dérivation, le O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine (PFBHA) ou la pentafluorophenyl hydrazine (PFPH). Dans le vin, cet agent a d'abord été utilisé en extraction liquide/liquide pour la quantification de composés dicarbonylés (De Revel et Bertrand, 1994). Couplé à l'extraction en phase solide (Solid Phase Extraction, SPE), il a ensuite été utilisé pour l'analyse de plusieurs aldéhydes (Culleré *et al.*, 2004 ; Ferreira *et al.*, 2004). Des développements similaires par SPME-CPG-SM dans la bière ont démontré l'efficacité de cette méthode par une dérivation sur fibre (Vesely *et al.*, 2003). Toutefois, Saison *et al.*, (2009) attestent que l'ajout de l'agent de dérivation directement dans la solution (bière) est nettement plus efficace pour la quantification des aldéhydes linéaires saturés (alkanals), insaturés (alkenals) ou des cétones. Plus récemment, Lopez-Vasquez *et al.* (2012) ont validé une méthode de quantification par SPME d'un grand nombre d'aldéhydes à courtes chaînes (C3-C10), saturés ou non, dans les eaux-de-vie de marc.

Cependant, il n'existe pas, à notre connaissance, de méthode validée permettant l'analyse simultanée d'un ensemble d'aldéhydes à courtes chaînes linéaires (saturés, mono-insaturés et poly-insaturés) dans les vins.

Ainsi, nous avons décidé de développer une méthode qui réponde à cette problématique en nous basant sur les précédentes études, par le choix d'un agent de dérivation et en utilisant la SPME. En comparaison avec la SPE, la SPME a montré en effet, malgré des performances légèrement inférieures, son adaptation à ce type de dosage (Zapata *et al.*, 2010).

## 2.1. Protocole expérimental

### 2.1.1. Optimisation de la méthode

La méthode a été optimisée à partir d'un vin rouge de Bordeaux contenant 17 mg/L SO<sub>2</sub> libre et supplémenté par 1 µg/L d'alkanals, 200 ng/L d'alkenals, alkadienals et alkadienones. La recherche des paramètres analytiques optimums concernant la durée et la température d'incubation ou la concentration en agent dérivatisant (pFBHA) a été effectuée selon un plan d'expérience de Box-Behnken avec trois niveaux pour chacun des facteurs (**Tableau 40**).

**Tableau 40.** Paramètres expérimentés (température d'incubation, temps d'incubation et concentration en pFBHA) lors de l'optimisation des conditions de préparation et d'extraction de l'échantillon (plan d'expérience Box-Behnken).

| Température d'incubation (°C) | Temps d'extraction (min) | Concentration en pFBHA (g/L) |
|-------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 30                            | 20                       | 0,5                          |
| 45                            | 40                       | 1                            |
| 60                            | 60                       | 1,5                          |

12 expériences complémentaires sous la forme de deux plans factoriels complets (température d'incubation/concentration en pFBHA ; dilution/concentration en pFBHA) ont aussi été réalisées pour préciser l'optimum de température d'incubation et de concentration en pFBHA, tout en incluant un autre paramètre complémentaire à savoir le niveau de dilution (**Tableau 41**).



**Tableau 41. Paramètres expérimentés avec un plan factoriel complet pour la précision des conditions d'optimisation analytiques : température d'incubation, concentration en pFBHA, dilution.**

| Température d'incubation (°C) | Concentration en pFBHA (g/L) | Dilution |
|-------------------------------|------------------------------|----------|
| 60                            | 0,25                         | 1        |
| 70                            | 0,5                          | 1/2      |
| 80                            | -                            | 1/4      |

Les valeurs expérimentales ont été traitées par le logiciel Minitab 16 software.

### 2.1.2. Validation de la méthode

La méthode a été validée dans un vin rouge de Bordeaux. Au total, des ajouts dosés ont été réalisés selon 11 modalités pour tous les composés : témoin ; 1 ; 2,5 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 ; 100 ; 250 ; 500 ; 1000 ng/L.

La **linéarité** ( $R^2$ ) a été estimée sur différentes plages de concentration (ng/L) : [100-1000] pour l'hexanal, [250-25] pour les autres alcanals ; [1-250] pour les alkenals : [1-50] pour l'alkadienals ; [1-10] pour l'alkadienone.

La **répétabilité**, exprimée en écart type relatif à la moyenne (% RSD), est mesurée par dix injections d'un vin de presse contenant la totalité des aldéhydes (n=10). Le **recouvrement**, exprimé en écart type relatif à la valeur théorique (% RSD), est estimé par l'ajout de 250 ng/L d'alcanals, 50 ng/L d'alkenals, 10 ng/L d'alkadienals et alkadienone.

La **limite de détection** et la **limite de quantification** sont déterminées par le rapport signal/bruit, respectivement égal à 3 et 10.

## 2.2. Optimisation des paramètres de préparation et d'extraction des échantillons

Comme dans le **chapitre 2**, lors du développement et de l'optimisation de la méthode de quantification, nous avons cherché à identifier les facteurs clefs pouvant influencer de manière importante sur la réponse. Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à l'optimisation du type de fibre SPME, des paramètres de l'extraction (ajout de sel, température d'incubation, concentration en agent de dérivation).

### 2.2.1. Type de fibre et quantité de sel ajoutée

Le choix de certains paramètres comme celui de la fibre ou la quantité de sel ajoutée ont reposé sur des développements similaires de méthodes de quantification de ces composés, réalisés dans la bière (Vesely *et al.*, 2003 ; Saison *et al.*, 2009) ou dans les eaux-de-vie de marc (Lopez-Vasquez *et al.*, 2012). La fibre SPME de type **PDMS/DVB** a été sélectionnée comme procurant les meilleurs résultats quantitatifs dans chacune des études. Ces mêmes auteurs ont aussi rapporté une perte d'intensité du signal chromatographique par méthode SPME après l'addition de sel, probablement dû à l'augmentation des interactions ioniques avec les oximes formées ; par conséquent, ***aucun ajout de sel*** n'a été effectué à l'échantillon.

### 2.2.2. Temps et température d'incubation, concentration en pFBHA et dilution

En accord avec les études énoncées précédemment, les paramètres de temps et de température d'incubation, ainsi que la concentration d'agent de dérivation (pFBHA), ont d'abord été optimisés selon un plan d'expérience de Box-Benhken, similaire à celui utilisé au **chapitre 2** pour le développement de la méthode de quantification des méthoxypyrazines (**Figure 67**).

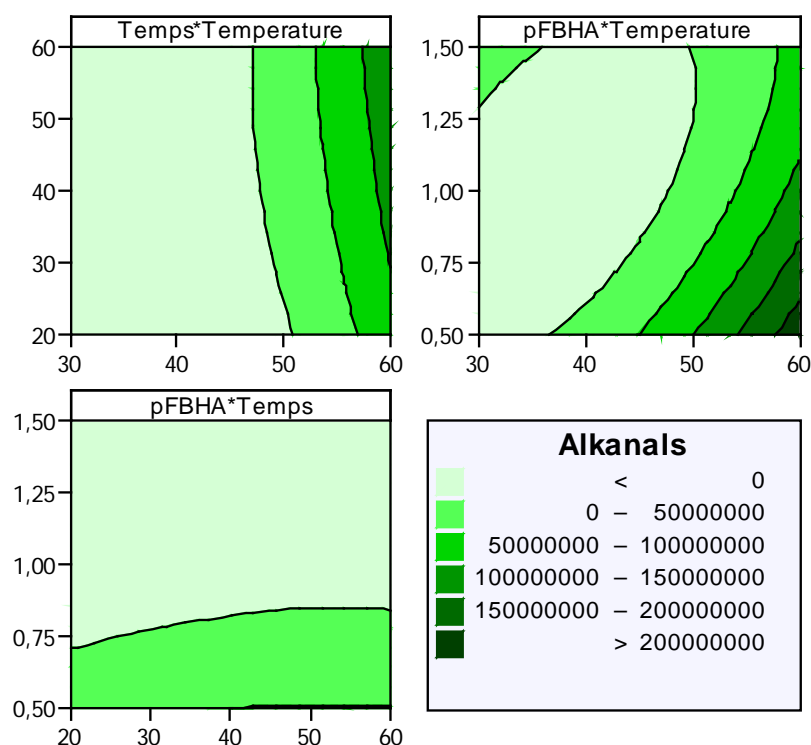


Figure 67. Graphique des contours (ordonnée\*abscisse) de la somme de surface des pics chromatographiques des alkanals. Paramètres analytiques : incubation 45 °C, 40 min, 1 g/L pFBHA. L'intensité des couleurs est proportionnelle à la réponse mesurée (aire du pic chromatographique).

Tout d'abord, le temps d'incubation n'apparaît pas comme le facteur le plus impactant sur l'intensité des surfaces de pics chromatographiques, sinon l'observation faite de réponses optimales pour des durées d'incubation de 40 et 60 minutes. Ainsi, une **durée d'incubation de 50 minutes** est choisie. Inversement, la température d'incubation ou la concentration en pFBHA affectent l'intensité de la réponse chromatographique ; la température optimale se situant à 60 °C et, de manière assez surprenante, l'augmentation de la concentration en pFBHA engendrant une diminution de l'intensité : l'optimum se situant au niveau le plus bas testé (0,5 g/L).

Étant donné que les optimums se situaient aux bornes du plan d'expérience, il était préférable de vérifier au-delà de ces valeurs. Pour cela, deux plans factoriels ont été mis en place, mettant en jeu des températures plus importantes (60-80 °C) et des concentrations en pFBHA plus basses (0,25-0,5 g/L). Ainsi, un premier plan factoriel a testé la concentration en pFBHA en y associant le niveau de dilution. Par ailleurs, nous avons pu observer que les alkenals et alkadienals réagissent de la même manière que les alkanals dans les différents

paramètres analytiques considérés. Aussi, les résultats du plan d'expérience présenté concernent uniquement les alkanals (**Figure 68**).

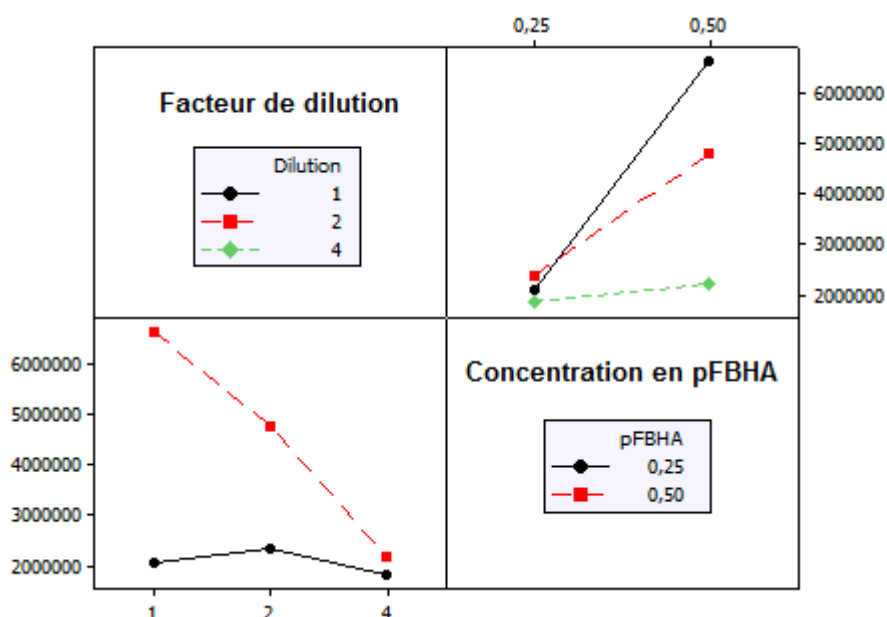


Figure 68. Diagramme factoriel des interactions de la concentration en pFBHA et de la dilution sur la somme des alkenals.

Le graphique des interactions révèle que la dilution du vin engendre une perte significative dans l'intensité mesurée ; d'autant plus marquée que l'on se situe à l'optimum de concentration en pFBHA de 0,5 g/L. Pour l'analyse, *aucune dilution* du vin n'a donc réalisée.

À l'inverse des autres optimisations, les effets mesurés sur le second plan factoriel (température d'incubation/concentration en pFBHA) montrent des différences notables entre les familles de composés (**Figure 69**). Ainsi, le choix des conditions analytiques optimales a reposé sur un compromis considérant les différentes familles de composés, mais qui privilégiait celles dont la concentration naturelle dans les vins était la plus faible, à savoir les alkenals et alkadienals. Considérant cela, une *température d'incubation de 70 °C* et une *concentration en pFBHA de 0,5 g/L* ont été choisies.

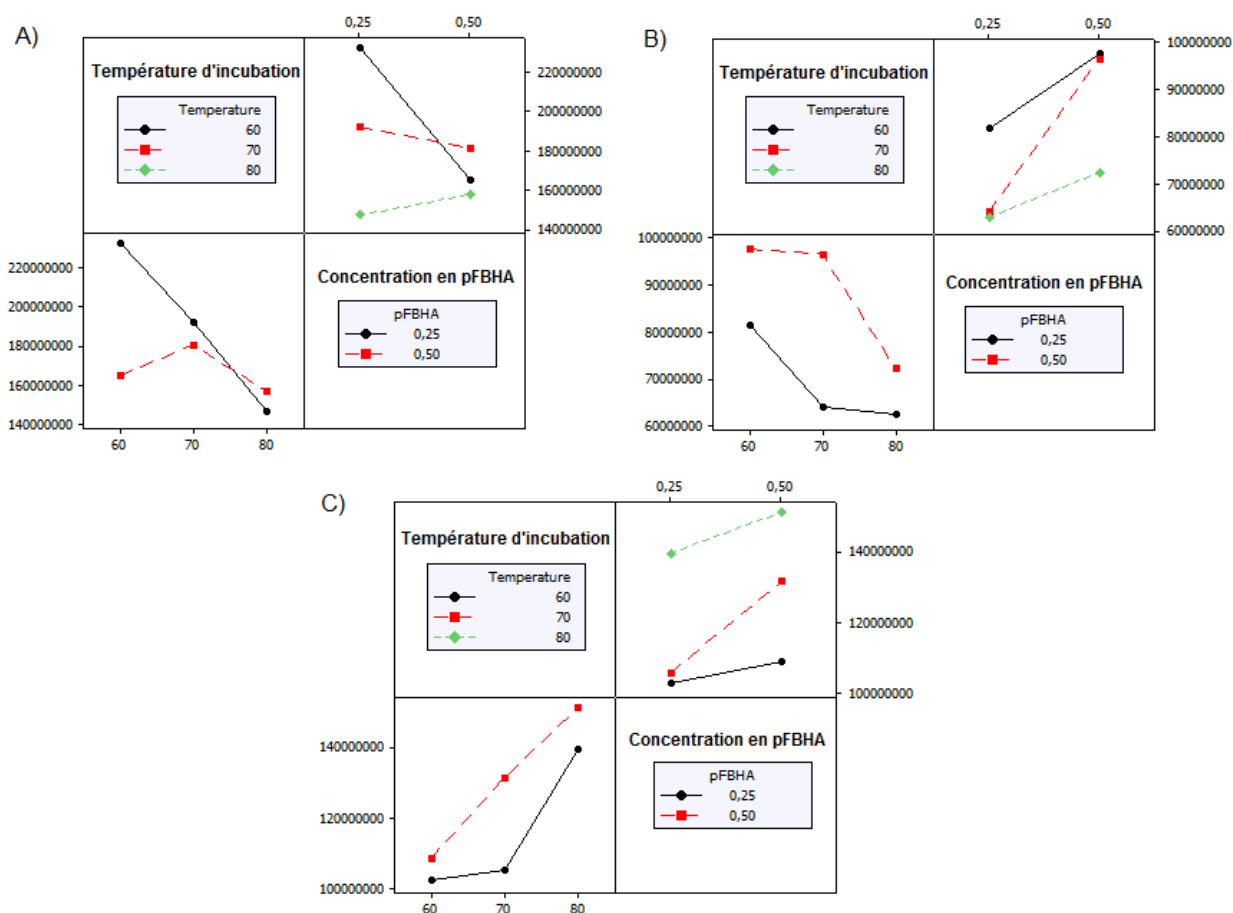


Figure 69. Diagramme factoriel des interactions de la concentration en pFBHA et de la température d'incubation sur la somme des alcanals (A), alkenals (B), alkadienals (C).

### 2.3. Validation de la méthode

Les paramètres de qualité tels que la répétabilité, la linéarité, le recouvrement (précision) ou la limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ) ont été évalués après que les conditions optimales aient été déterminées (**Tableau 42**).

La **répétabilité** a été estimée par 10 injections d'un vin de presse contenant des concentrations en ces composés naturellement au-dessus de la limite de quantification de la méthode. La majorité des valeurs de répétabilité se situent en dessous des 10 %, avec des valeurs hautes n'excédant pas 20 %. Pour les autres paramètres, la méthode a été validée par des ajouts dans le même vin rouge de Bordeaux que celui utilisé pour l'optimisation de la méthode. Pour chacun des composés, la **linéarité** est estimée dans une gamme de concentration retrouvée dans le vin. Une correction est établie en soustrayant l'aire du pic d'un composé par l'aire de son pic dans le vin non supplémenté (témoin). La courbe de calibration est établie après une correction

par l'étalon interne pour chaque ion mesuré. Pour tous les composés, la linéarité obtenue est supérieure à 0,99. La précision est estimée en calculant le **recouvrement** d'une addition de concentration dans le même ordre de grandeur que les valeurs rencontrées dans les vins pour chacun des composés (250 ng/L d'alkanals, 50 ng/l d'alkenals, 10 ng/L d'alkadienal et alkadienone). Les valeurs de recouvrement se positionnent le plus souvent dans la plage d'acceptabilité (80-120 %), avec une majorité proche de 100 %. Enfin, les **limites de détection** ( $signal/bruit = 3$ ) et les **limites de quantification** ( $signal/bruit = 10$ ) ont été calculées manuellement par le ratio de la hauteur du pic sur la moyenne du bruit de fond avant et après chaque pic. Les limites de quantification n'excèdent pas 10 ng/L et les limites de détection se situent autour de 1 à 2 ng/L en moyenne.

**Tableau 42. Répétabilité, recouvrement, linéarité, limite de quantification (LOQ) et limite de détection (LOD) de la méthode développée.**

| <i>Alkanals</i>     | Hex   | Hept  | Oct   | Non   | Dec   |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Répétabilité (%RSD) | 19,5  | 15,6  | 10,6  | 7,6   | 9,8   |
| Recouvrement (%RSD) | 105,8 | 103,1 | 124,7 | 124,5 | 116,5 |
| Linéarité ( $R^2$ ) | 0,993 | 0,999 | 0,996 | 0,996 | 0,992 |
| LOQ (ng/L)          | 5,5   | 5,7   | 4,5   | 4,3   | 2,0   |
| LOD (ng/L)          | 1,6   | 1,7   | 1,3   | 1,3   | 0,6   |

| <i>Alkenals</i>     | E2Hex | E2Hept | E2Oct | E2Non | E2Dec | Z4Hep |
|---------------------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|
| Répétabilité (%RSD) | 15,7  | 9,7    | 3,3   | 8,2   | 7,2   | 7,9   |
| Recouvrement (%RSD) | 85,9  | 84,2   | 97,9  | 96,9  | 94,1  | 124,2 |
| Linéarité ( $R^2$ ) | 0,999 | 0,999  | 0,999 | 0,998 | 0,995 | 0,999 |
| LOQ (ng/L)          | 2,9   | 0,7    | 3,8   | 5,6   | 2,1   | 4,5   |
| LOD (ng/L)          | 0,9   | 0,2    | 1,1   | 1,7   | 0,6   | 1,3   |

| <i>Alkadienals, Alkadienone</i> | EE24Hept | EE24Non | EE26Non | EZ26Non | EE24Deca | Z15Oct |
|---------------------------------|----------|---------|---------|---------|----------|--------|
| Répétabilité (%RSD)             | 3,4      | 6,1     | 6,7     | 8,3     | 10,2     | 14,5   |
| Recouvrement (%RSD)             | 99,6     | 89,8    | 97,7    | 103,0   | 93,4     | 91,8   |
| Linéarité ( $R^2$ )             | 0,999    | 0,998   | 0,994   | 0,999   | 0,998    | 0,996  |
| LOQ (ng/L)                      | 2,1      | 1,3     | 5,6     | 7,6     | 3,0      | 8,3    |
| LOD (ng/L)                      | 0,6      | 0,4     | 1,7     | 2,3     | 0,9      | 2,5    |

L'absence de formation par oxydation chimique au cours de la phase extractive de ces composés a aussi été vérifiée par comparaison de vial inerté au CO<sub>2</sub> et supplémenté de 3 µL d'EDTA à 60 g/L.

Ainsi, l'estimation de ces paramètres témoigne, en plus de la sensibilité de la méthode, de son aptitude à fournir des valeurs représentatives de la concentration réelle en alkanals, alkenals, alkadienals et alkadienone dans les vins rouges.

### 3. QUANTIFICATION DES COMPOSÉS CIBLES DANS LES VINS ROUGES

#### 3.1. Quantification de la (Z)-1,5-octadien-3-one et du (Z)-4-heptenal

La (Z)-1,5-octadien-3-one est un composé extrêmement odorant et, malgré la faible limite de quantification de la méthode de dosage (2,5 ng/L), il n'a pu être détecté dans tous les vins. De fait, ce composé a pu être dosé dans des vins de Merlot du millésime 2015, mais pas dans ceux du millésime 2014, bien que l'odeur de « feuille de géranium » caractéristique du composé ait été nettement perçue par CPG-O (**chapitre 8**) (**Tableau 43**).

De plus, les résultats montrent que les teneurs en (Z)-1,5-octadienone sont susceptibles de s'accroître avec le pressurage jusqu'à une teneur de 11,7 ng/L, supérieure à son seuil de détection olfactive dans l'eau (0,9 ng/L). L'étude de son impact sensoriel dans le vin a été approfondie dans le **chapitre 10**.

**Tableau 43. Concentrations en (Z)-1,5-octadien-3-one et (Z)-4-heptenal (moyenne ± écart-type en ng/L) dans plusieurs vins de goutte et vins de presse correspondants.**

| Vins                    | (Z)-1,5-octadien-3-one (ng/L) | (Z)-4-heptenal (ng/L) |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Pomerol 15, M (G)       | 4,6 ± 1,2                     | < LOD                 |
| Pomerol 15, M (P4ni)    | 11,7 ± 0,7                    | 4,7 ± 1,17            |
| Bordeaux DR15, M (G)    | < LOD                         | 2,0 ± 0,5             |
| Bordeaux DR15, M (P4ni) | 2,7 ± 0,1                     | 8,7 ± 0,6             |

\* M, Merlot, millésime 2015. G, vin de goutte ; P4ni, vin de presse (paliers 4, non inerté)

Le dosage du **(Z)-4-heptenal** a été envisagé par analogie, y compris en termes d'odeur, avec celui du (Z)-4-heptenol mis en évidence précédemment (**chapitre 8**). Les résultats montrent également des concentrations plus importantes dans les vins de presse (8,7 ng/L ; 4,7 ng/L) par rapport aux vins de goutte (2 ng/L ; inférieur à limite de détection) mais, dans le cas présent, les teneurs sont nettement inférieures au seuil de détection olfactive de ce composé dans l'eau (200 ng/L ; Milo, 1995). Son impact sensoriel a aussi été précisé au cours du chapitre suivant.

### **3.2. Quantification des alcanals, alkenals et alkadienals dans les vins de goutte et de presse expérimentaux en lien avec le stade de maturité des raisins**

Au même titre qu'ils formaient un modèle pertinent pour l'étude de l'arôme des vins rouges en relation avec la maturité des raisins, les vins expérimentaux étudiés au cours du **chapitre 4** et incluant deux stades de maturité des raisins de Merlot et de Cabernet Sauvignon sur deux millésimes (2014 et 2015), constituaient une approche intéressante pour l'appréhension de la catégorie « vins de presse ». En effet, pour chacune des modalités, le marc obtenu après l'écoulage a été pressé dans un mini presseoir pneumatique jusqu'à une pression de 2 bars maximum afin d'en extraire le vin de presse. D'ailleurs, pour une modalité particulière de raisins de Cabernet-Sauvignon récolté à maturité optimale (millésime 2015), notée *CS\_Mat+15(P++)*, le niveau de pression exercé sur le marc a été conduit jusqu'à 5 bars ; le vin en résultant exprimait de fortes nuances végétales.

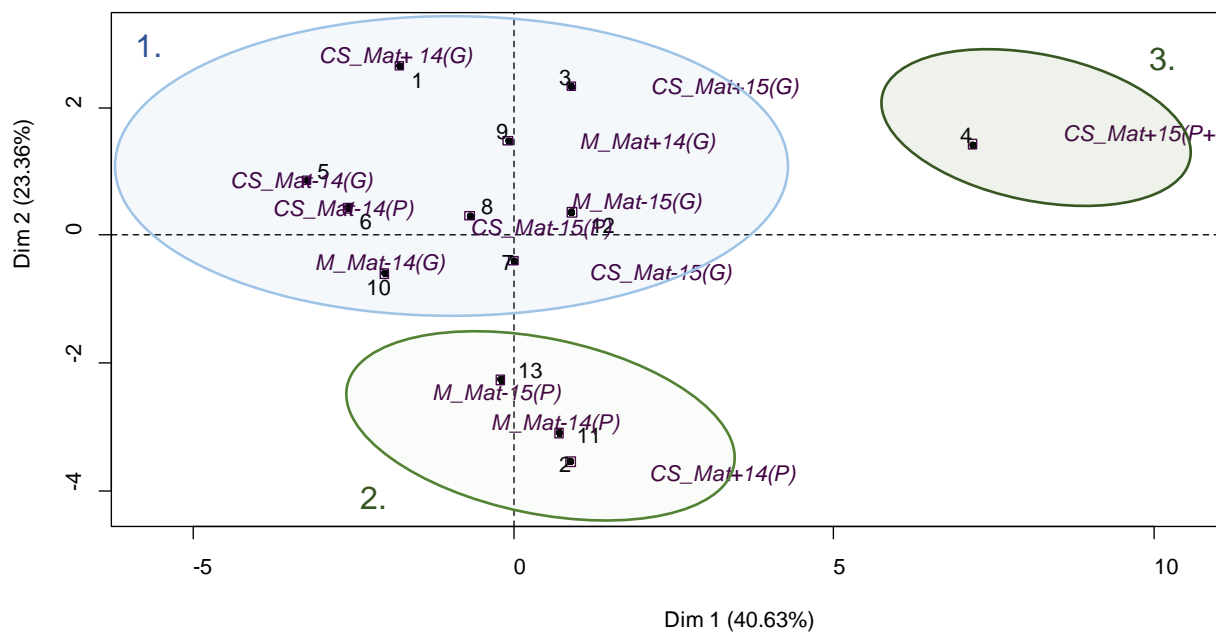
Après fermentation malolactique réalisée dans les mêmes conditions que pour les vins de gouttes, les vins ont été soutirés, sulfités à 50 mg/L puis embouteillés (1,5 L). Avant analyse, les teneurs en SO<sub>2</sub> libre ont été rajustées à 35 mg/L.



**Tableau 44. Concentrations (ng/L) en alkanals, alkenals, alkadienals dans les vins de goutte (G) et de presse (P) analysés.**

| <i>Alkanals</i>    | <b>Hex</b>      | <b>Hept</b>    | <b>Oct</b>      | <b>Non</b>     | <b>Dec</b>     |
|--------------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| CS_Mat+ 14(G)      | 263,4 ± 17,9    | 49,4 ± 5,6     | 175,3 ± 7,0     | 253,3 ± 5,9    | 205,3 ± 89,9   |
| CS_Mat+14(P)       | 481,2 ± 34,5    | 67,1 ± 7,1     | 112,5 ± 5,1     | 149,2 ± 24,6   | 96,8 ± 39,1    |
| CS_Mat+15(G)       | 818,4 ± 119,1   | 75,2 ± 12,6    | 294,4 ± 22,5    | 402,4 ± 26,7   | 151,9 ± 22,6   |
| CS_Mat+15(P++)     | 1620,3 ± 19,8   | 180,4 ± 3,3    | 630,2 ± 9,5     | 841,3 ± 10,9   | 132,4 ± 7,3    |
| CS_Mat-14(G)       | 220,2 ± 10,3    | 27,1 ± 0,1     | 100,0 ± 7,7     | 134,6 ± 2,7    | 129,2 ± 0,2    |
| CS_Mat-14(P)       | 341,6 ± 11,5    | 33,0 ± 2,4     | 101,4 ± 12,1    | 145,7 ± 16,9   | 148,8 ± 38,4   |
| CS_Mat-15(G)       | 650,5 ± 32,8    | 102,5 ± 20,7   | 124,9 ± 18,6    | 143,1 ± 9,3    | 93,1 ± 24,8    |
| CS_Mat-15(P)       | 429,3 ± 3,2     | 107,9 ± 3,1    | 184,7 ± 19,4    | 299,3 ± 30,0   | 55,0 ± 8,8     |
| Merlot_Mat+14(G)   | 755,7 ± 75,0    | 76,5 ± 2,1     | 215,5 ± 11,3    | 316,3 ± 18,1   | 350,4 ± 136,2  |
| MerlotMat-14(G)    | 589,7 ± 53,6    | 45,3 ± 7,3     | 147,7 ± 75,5    | 190,4 ± 114,6  | 91,8 ± 10,8    |
| MerlotMat-14(P)    | 651,9 ± 105,7   | 63,6 ± 10,5    | 116,8 ± 5,5     | 120,7 ± 3,0    | 101,1 ± 0,3    |
| MerlotMat-15(G)    | 394,4 ± 2,0     | 135,4 ± 5,8    | 384,4 ± 27,6    | 528,7 ± 22,3   | 105,8 ± 56,4   |
| MerlotMat-15(P)    | 356,4 ± 5,5     | 82,6 ± 3,4     | 80,7 ± 5,6      | 93,3 ± 5,6     | 64,5 ± 1,1     |
| <i>Alkenals</i>    | <b>E2Hex</b>    | <b>E2Hept</b>  | <b>E2Oct</b>    | <b>E2Non</b>   | <b>E2Dec</b>   |
| CS_Mat+ 14(G)      | 12,2 ± 0,8      | 0,5 ± 0,1      | 5,9 ± 0,6       | 5,2 ± 0,7      | 28,1 ± 2,8     |
| CS_Mat+14(P)       | 28,7 ± 0,2      | 3,6 ± 0,0      | 28,2 ± 0,5      | 7,4 ± 0,3      | 4,2 ± 0,9      |
| CS_Mat+15(G)       | 29,7 ± 4,8      | 0,4 ± 0,0      | 4,5 ± 0,8       | 7,8 ± 0,8      | 13,3 ± 1,2     |
| CS_Mat+15(P++)     | 356,2 ± 24,0    | 2,6 ± 0,1      | 10,2 ± 0,4      | 9,7 ± 1,2      | 9,0 ± 0,9      |
| CS_Mat-14(G)       | 88,5 ± 1,7      | 0,8 ± 0,0      | 4,2 ± 0,7       | 3,1 ± 0,5      | 7,4 ± 0,4      |
| CS_Mat-14(P)       | 54,3 ± 3,1      | 0,6 ± 0,0      | 4,2 ± 0,1       | 4,5 ± 0,1      | 16,1 ± 0,2     |
| CS_Mat-15(G)       | 41,3 ± 5,1      | 1,4 ± 0,3      | 7,5 ± 0,2       | 7,6 ± 0,3      | 1,5 ± 0,5      |
| CS_Mat-15(P)       | 52,2 ± 0,6      | 0,6 ± 0,0      | 7,6 ± 0,5       | 5,6 ± 0,4      | 4,4 ± 0,0      |
| Merlot_Mat+14(G)   | 8,2 ± 0,9       | 2,5 ± 0,0      | 6,3 ± 1,0       | 7,2 ± 1,3      | 8,7 ± 0,7      |
| MerlotMat-14(G)    | 29,2 ± 0,1      | 4,3 ± 0,6      | 5,2 ± 0,1       | 3,9 ± 0,1      | 5,1 ± 1,8      |
| MerlotMat-14(P)    | 21,0 ± 3,4      | 3,0 ± 0,3      | 10,8 ± 0,7      | 6,9 ± 0,7      | 4,1 ± 0,9      |
| MerlotMat-15(G)    | 30,2 ± 2,0      | 2,0 ± 0,2      | 6,0 ± 0,2       | 7,6 ± 0,0      | 5,6 ± 0,2      |
| MerlotMat-15(P)    | 41,2 ± 0,6      | 2,5 ± 0,2      | 7,5 ± 0,0       | 7,3 ± 0,5      | 6,1 ± 0,4      |
| <i>Alkadienals</i> | <b>EE24Hept</b> | <b>EE24Non</b> | <b>EE24Deca</b> | <b>EE26Non</b> | <b>EZ26Non</b> |
| CS_Mat+ 14(G)      | 0,6 ± 0,1       | 4,3 ± 0,2      | 1,6 ± 0,0       | 5,4 ± 0,2      | 1,5 ± 0,0      |
| CS_Mat+14(P)       | 4,8 ± 0,9       | 2,4 ± 0,0      | 5,7 ± 0,3       | 8,9 ± 0,4      | 3,2 ± 0,6      |
| CS_Mat+15(G)       | 1,7 ± 0,0       | 5,9 ± 0,0      | 5,0 ± 0,0       | 7,8 ± 0,6      | 1,3 ± 0,3      |
| CS_Mat+15(P++)     | 4,6 ± 0,2       | 5,2 ± 0,7      | 3,3 ± 0,1       | 11,1 ± 2,0     | 3,0 ± 0,3      |
| CS_Mat-14(G)       | 0,9 ± 0,1       | 2,1 ± 0,2      | 6,5 ± 0,4       | 3,4 ± 0,3      | 0,7 ± 0,1      |
| CS_Mat-14(P)       | 1,4 ± 0,3       | 2,2 ± 0,1      | 18,5 ± 0,5      | 5,7 ± 0,8      | 2,0 ± 0,2      |
| CS_Mat-15(G)       | 2,0 ± 0,1       | 2,5 ± 0,0      | 3,6 ± 0,3       | 7,8 ± 0,2      | 1,3 ± 0,0      |
| CS_Mat-15(P)       | 1,1 ± 0,0       | 2,4 ± 0,3      | 2,7 ± 0,1       | 5,3 ± 0,5      | 1,8 ± 0,4      |
| Merlot_Mat+14(G)   | 1,0 ± 0,1       | 3,1 ± 0,1      | 3,3 ± 0,3       | 6,8 ± 0,1      | 1,2 ± 0,3      |
| MerlotMat-14(G)    | 1,5 ± 0,1       | 1,2 ± 0,0      | 5,0 ± 0,4       | 4,6 ± 0,9      | 0,7 ± 0,1      |
| MerlotMat-14(P)    | 7,1 ± 0,9       | 1,6 ± 0,2      | 5,3 ± 1,0       | 9,5 ± 1,8      | 3,3 ± 0,8      |
| MerlotMat-15(G)    | 1,7 ± 0,3       | 2,1 ± 0,3      | 10,4 ± 0,4      | 7,5 ± 0,1      | 1,6 ± 0,1      |
| MerlotMat-15(P)    | 4,3 ± 0,1       | 2,5 ± 0,1      | 11,3 ± 1,3      | 7,0 ± 0,2      | 3,7 ± 0,5      |

Au final, l'analyse quantitative des différents groupes d'aldéhydes (15 composés analysés) a permis de faire le lien entre l'intensité du pressurage des marcs et leurs niveaux de concentration dans les vins. Les résultats ont été exprimés en rassemblant toutes les modalités sous la forme d'une Analyse en Composantes Principales (**Figure 70**).

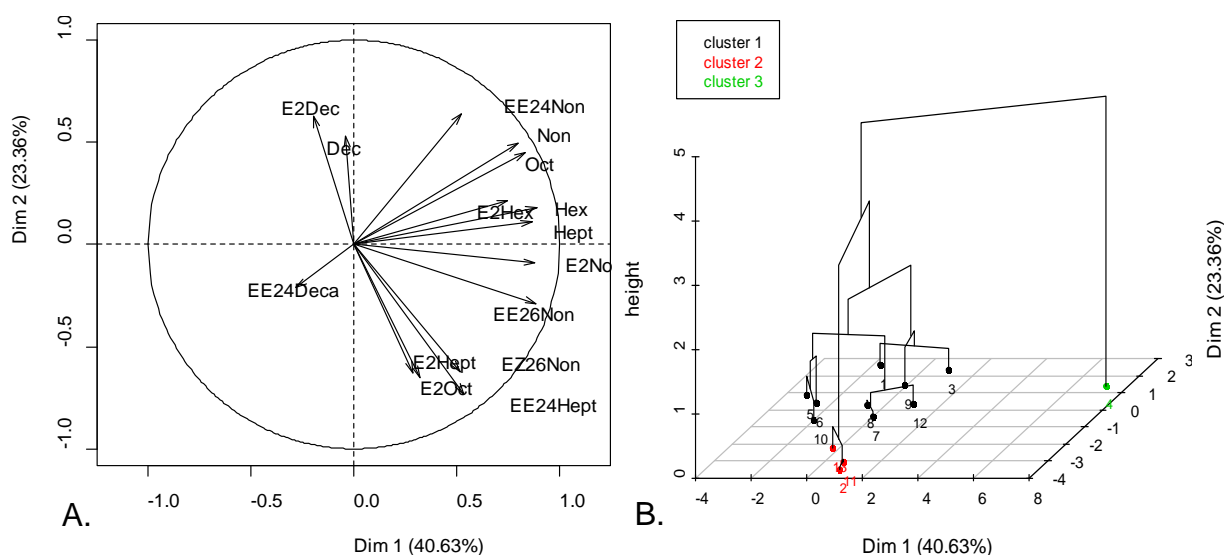


**Figure 70. Carte des individus (vins de presse et de goutte) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP).** (P), vin de presse ; (G), vin de goutte ; Mat+, Maturité+ ; Mat-, Maturité- ; M, Merlot, CS, Cabernet Sauvignon ; 14, millésime 2014 ; 15, millésime 2015.

L'inertie totale résultant des variances de l'axe 1 (40,63 %) et de l'axe 2 (23,36 %) est de 63,99 %. Nous considérons que l'information portée par les deux axes est d'un niveau acceptable pour permettre une interprétation.

De plus, l'ACP a été complété par une ACH, ou Classification Ascendante Hiérarchique (**Figure 71 B**) permettant de confirmer l'existence de trois groupes principaux bien distincts sur la carte des individus (**Figure 70**). Les vins de goutte forment le groupe majoritaire (1) tandis que le second groupe est représenté par 3 vins de presse (2) et le dernier groupe (3), qui se démarque nettement des deux autres, est représenté par un unique échantillon de vin de presse obtenu par une action accrue sur le marc et noté « CS\_Mat+15(P++) ». Ainsi, la considération de l'ensemble de ces composés volatils semble en mesure de discriminer une partie des vins de presse par rapport aux vins de goutte correspondants.

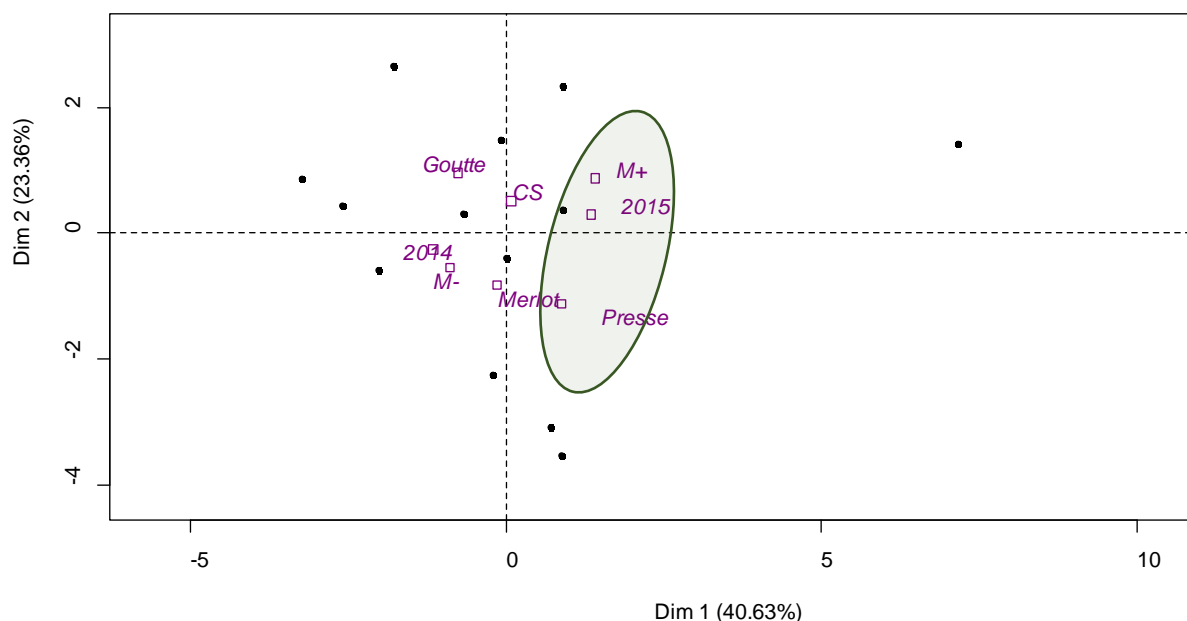
De plus, le graphique des variables (**Figure 71 A**) précise que la majorité des aldéhydes analysés, à l'exception du décanal, (*E*)-2-décenal, et (*E,E*)-2,4-décadienal (10 atomes de carbone), voient leur concentration évoluer dans le même sens que celui de l'intensité du pressurage des marcs.



**Figure 71. Représentation graphique des variables (aldéhydes) dans l'espace de notation obtenu par l'Analyse en Composantes Principales (A). Représentation des groupes obtenus par une Classification Ascendante Hiérarchique (B).**

Cependant, cette discrimination n'est pas absolue puisque les deux vins de presse de Cabernet Sauvignon de la modalité *Maturité*- (millésime 2014 et 2015) ont des compositions en aldéhydes qui restent très proches de leurs vins de goutte respectifs. Cette analogie dans les niveaux de concentration est bien représentée par l'ACH (**Figure 71 B**) : points 5 et 6 pour le millésime 2014 ; points 7 et 8 pour le millésime 2015. Cela contraste donc avec les vins de presse de Cabernet de la modalité *Maturité*+ qui se distinguent nettement de leur vin de goutte correspondant.

Afin d'apporter des éléments d'interprétation à ce phénomène, une autre représentation (ACP) a été réalisée sur les vins organisés en catégorie : cépage (Merlot, Cabernet Sauvignon), maturité (*Maturité*-, *Maturité*+), millésime (2014, 2015), type (goutte, presse) (**Figure 72**).



**Figure 72. Carte des individus (vins de presse et de goutte) obtenus par l'Analyse en Composantes Principales (ACP).** Variables qualitatives illustratives : M+, Maturité+ ; M-, Maturité- ; CS, Cabernet Sauvignon.

En accord avec la représentation des variables (**Figure 71 A**), les teneurs en aldéhydes apparaissent bien corrélées au facteur « pressurage » mais ont aussi un lien avec la maturité des raisins : les vins issus des raisins les moins mûrs (*Maturité-*) contenant de plus faibles concentrations que les vins de raisins de maturité optimale (*Maturité+*). Aussi, ces composés ne contribuent vraisemblablement pas aux notes végétales des vins obtenus à partir des raisins récoltés précocement. Ces résultats rejoignent l'étude de Kalua *et al.* (2009) dans laquelle les auteurs observent que 4 aldéhydes quantifiés (pentanal, hexanal, heptanal et (*E*)-2-hexenal) augmentent au cours de la maturation du raisin pour atteindre un maximum juste avant le stade de flétrissement des baies (état de surmaturation). Ainsi, nous montrons que la majorité des aldéhydes, y compris les alkadiénals, suivent cette tendance d'évolution. Ceci pourrait expliquer la présence de la (*Z*)-1,5-octadien-3-one et du (*Z*)-4-heptenal au-dessus de la limite de détection de la méthode, uniquement dans les modalités de vins de Merlot du millésime 2015 à Bordeaux, vins élaborés à partir de raisin possédant un niveau de maturité élevé (**chapitre 8**).

Au final, le pressurage apparaît alors comme un facteur d'importance susceptible de conditionner les concentrations en aldéhydes dans les vins et, paradoxalement, d'autant plus actif que la vendange présente un niveau de maturité optimal.

## **4. CONCLUSION**

Dans ce chapitre, une méthode de quantification de composés carbonylés (alkanals, alkenals, alkadienals et alkadienone) dans les vins rouges a été développée. Ses performances ont permis une quantification fiable des teneurs de ces composés dans différents types de vins (goutte et de presse), même lorsque celles-ci se situaient à de faibles concentrations (de l'ordre du ng/L).

La considération globale des données de quantification par des Analyses en Composantes Principales (ACP) et de Classification Ascendante Hiérarchique (ACH) a révélé que les vins de presse étaient susceptibles de contenir des teneurs généralement plus importantes en composés aldéhydiques ; teneurs d'autant plus élevées que le pressurage était intense et que le stade de maturité des raisins était avancé. Ces observations rejoignent donc l'hypothèse d'une formation accrue de ces composés en lien avec des mécanismes physico-chimiques lors du traitement physique du marc. Les paramètres d'influence technologique (inertage des marcs lors du pressurage, intensité du pressurage, rôle de la fermentation malolactique, ajout de dioxyde de soufre) pour ces composés ont été étudiés au **chapitre 11**. Le fort pouvoir odorant de certains d'entre eux suggère qu'ils pourraient contribuer activement à l'expression aromatique des vins de presse, une hypothèse considérée au chapitre suivant.

En perspective de ce chapitre, il serait alors intéressant de coupler cette méthode d'analyse spécifique des composés carbonylés à système de chromatographie intégralement bidimensionnelle (CPGxC PG) afin d'avoir une considération encore plus large et simultanée de l'ensemble de ces molécules sous la forme d'une cartographie.

# **Chapitre 10. Impact sensoriel de composés susceptibles de contribuer à l'expression aromatique des vins de presse**

## **1. INTRODUCTION**

Les approches analytiques employées au cours des chapitres précédents (**chapitre 8** et **chapitre 9**) ont révélé un certain nombre de composés dont les teneurs, plus élevées dans les vins de presse par rapport aux vins de goutte, suggèrent une contribution sensorielle à la catégorie aromatique considérée.

Les approches sensorielles développées dans ce chapitre avaient donc pour objectif de préciser l'impact olfactif, seul ou en mélange, de ces différents composés dont les descripteurs, en lien avec la famille aromatique du végétal, sont résumés dans le **Tableau 45**.

**Tableau 45. Caractéristiques (description, seuil de détection olfactive de la littérature) des molécules odorantes étudiées en lien avec leur niveau d'abondance dans la catégorie « vins de presse ».**

| Composé                | Description                        | Seuil de détection (µg/L) | Référence |
|------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------|
| <i>Alkanals</i>        |                                    |                           |           |
| Hexanal                | Herbe coupée                       | 4,5 - 5                   | 1         |
| Heptanal               | Citron, rance, gras                | 3                         | 1         |
| Octanal                | Peau de citron, vert               | 0,7                       | 1         |
| Nonanal                | Peau d'agrumes, vert               | 1                         | 1         |
| Decanal                | Savon, suif, vert                  | 0,1                       | 2         |
| <i>Alkenals</i>        |                                    |                           |           |
| (E)-2-Hexenal          | Pomme verte                        | 17                        | 1         |
| (E)-2-Heptenal         | Gras, vert                         | 13                        | 3         |
| (E)-2-Octenal          | Vert, noix, gras                   | 3                         | 1         |
| (E)-2-Nonenal          | Concombre, oxydée, papier          | 1                         | 1         |
| (E)-2-Decenal          | Suif, orange                       | 0,3                       | 1         |
| (Z)-4-Heptenal         | Vert, croupie, poisson             | 0,2                       | 6         |
| <i>Alkadienals</i>     |                                    |                           |           |
| (E,E)-2,4-Heptadienal  | Vert                               | 56                        | 3         |
| (E,E)-2,4-Nonadienal   | Concombre, feuilles vertes         | 0,0017                    | 3         |
| (E,E)-2,6-Nonadienal   | Concombre, cire, vert              | -                         | -         |
| (E,Z)-2,6-Nonadienal   | Punaise écrasée, vert              | 0,0018-0,0022             | 4         |
| (E,E)-2,4-Decadienal   | Huile, friture, papier mâché, vert | 0,045                     | 3         |
| <i>Alkenones</i>       |                                    |                           |           |
| (Z)-1,5-octadien-3-one | Feuille de géranium                | 0,0009                    | 5         |
| 6-méthyl-5-hept-2-one  | Végétal, pomme                     | ~ 2                       | 7         |
| <i>Alkenol</i>         |                                    |                           |           |
| (Z)-4-heptenol         | Végétal, eau croupie               | 12,6                      | 8         |

\* Seuil de détection olfactive dans l'eau : <sup>1</sup> Buttery & Ling 1998 ; <sup>2</sup> Buttery et al. 1999 ; <sup>3</sup> Jensen et al. 1999 ; <sup>4</sup> Burlingame et al. 1992 ; <sup>5</sup> Darriet et al., 2002 ; <sup>6</sup> Milo, 1995. Seuil de détection olfactive dans le vin : <sup>7</sup> Riboul et al., 2013 ; détermination expérimentale (**chapitre 8**).

## 2. ESTIMATION DE L'IMPACT SENSORIEL DES ALKANALS, ALKENALS ET ALKADIENALS

Dans le chapitre précédent, nous avons observé que les teneurs en composés carbonylés à l'odeur végétale étaient significativement différentes dans certains vins d'égouttage par rapport aux vins issus du même marc après le pressurage. De fait, il est apparu pertinent de préciser l'impact sensoriel lié à l'addition de ces différentes familles de composés volatils dans le vin. Rappelons qu'un vin de presse obtenu par une pression importante sur le marc, noté « *CS\_Mat+15(P++)* », se distinguait nettement du vin de goutte par sa composition en aldéhydes mono- et poly- insaturés (**Tableau 46**).

**Tableau 46.** Concentrations en alkanals, alkenals et alkadienals dans le vin de presse *CS\_Mat+15(P++)* et dans le vin de goutte correspondant *CS\_Mat+15(G)*.

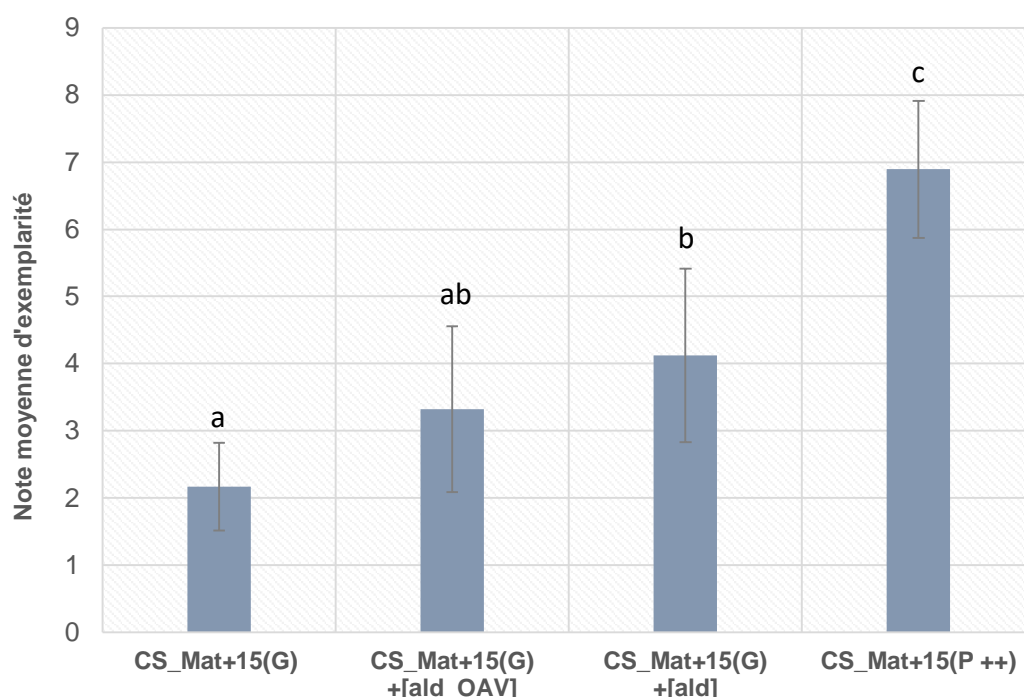
| <i>Alkanals</i>       | Hex           | Hept        | Oct          | Non          | Dec          |
|-----------------------|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| <i>CS_Mat+15(P++)</i> | 1620,3 ± 19,8 | 180,4 ± 3,3 | 630,19 ± 9,5 | 841,3 ± 10,9 | 132,4 ± 7,3  |
| <i>CS_Mat+15(G)</i>   | 818,1 ± 119,0 | 75,1 ± 12,6 | 299,3 ± 22,5 | 402,3 ± 26,7 | 151,9 ± 22,5 |
| <i>Alkenals</i>       | E2Hex         | E2Hept      | E2Oct        | E2Non        | E2Dec        |
| <i>CS_Mat+15(P++)</i> | 356,2 ± 23,4  | 2,6 ± 0,1   | 10,2 ± 0,4   | 9,6 ± 1,2    | 9,0 ± 0,3    |
| <i>CS_Mat+15(G)</i>   | 26,6 ± 4,7    | 0,3 ± 0,02  | 4,5 ± 0,8    | 7,7 ± 0,8    | 13,3 ± 1,2   |
| <i>Alkadienals</i>    | EE24Hept      | EE24Non     | EZ26Non      | EE26Non      | EE24Deca     |
| <i>CS_Mat+15(P++)</i> | 4,6 ± 0,1     | 5,2 ± 0,2   | 3,0 ± 0,09   | 11,1 ± 0,3   | 3,3 ± 0,4    |
| <i>CS_Mat+15(G)</i>   | 1,6 ± 0,03    | 5,9 ± 0,05  | 1,3 ± 0,3    | 7,8 ± 0,6    | 4,9 ± 0,02   |

Les écarts de concentration observés sur ces composés interrogent alors sur le rôle qu'ils seraient susceptibles de jouer dans l'apparition des nuances spécifique du vin de presse. Ainsi, un test d'addition a été réalisé dans le vin de goutte *CS\_Mat+15(G)* afin d'obtenir une teneur finale équivalente au vin de presse *CS\_Mat+15(P++)* sur la totalité des composés (*ald*) ou seulement les plus odorants d'un point de vue théorique, valeur déterminée par la considération du rapport de leur concentration sur leur seuil de détection olfactive (OAV). Ce dernier groupe



contenait donc uniquement l'hexanal (*OAV* 0,4), l'octanal (*OAV* 0,9) le nonanal (*OAV* 0,8) et le (*E,Z*)-2,6-nonadienal (*OAV* 1,7).

Les échantillons ont été évalués par le *panel* 10 dans les 2 h suivant l'ajout des composés et selon leur degré de représentativité à la catégorie « vin de presse », toujours en présence de vins témoins (**Figure 73**).



**Figure 73.** Note moyenne d'exemplarité à la catégorie « vin de presse ». La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95 %. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$  valeur < 0,05).

Les résultats montrent que l'addition des aldéhydes dans le vin d'égouttage (vin de goutte) engendre une augmentation significative de l'expression aromatique « vin de presse ». De plus, malgré l'impact théorique limité de certains de ces composés en regard du rapport de leurs concentrations sur le seuil de détection olfactive, la présence des aldéhydes dans leur globalité, permet d'accroître l'impact sensoriel de cette famille. Deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ces résultats : la première est que les *OAV* théoriques restent approximatifs et sont basés sur des données de la littérature et des seuils établis dans l'eau, ainsi, certains composés pourraient voir leur impact sous-estimé ; la seconde est qu'il pourrait exister des effets d'additivité entre ces molécules odorantes.

Par ailleurs, l'ensemble des aldéhydes supplémentés ne suffit pas à reproduire intégralement l'expression aromatique « vin de presse » : l'échantillon *CS\_Mat+15(G) +[ald]* diffère toujours significativement de l'échantillon *CS\_Mat+15(P++)* sur ce critère. Là encore, cela traduit la complexité de ce caractère et la contribution d'autres composés. Par conséquent, il apparaît indispensable de considérer l'impact en mélange des autres éléments aromatiques que nous avons précédemment mis en lumière.

### 3. MISE EN ÉVIDENCE DE CONTRIBUTEURS DE L'AROME DES VINS DE PRESSE

Nos précédentes observations ont permis de souligner la multiplicité des composés pouvant contribuer au caractère aromatique des vins de presse. Cette partie constitue donc une synthèse de l'impact sensoriel associé à ces molécules.

Afin de pouvoir discriminer les composés les plus impactant et être en mesure d'étudier leurs interactions, nous avons établi une première hiérarchisation basée, là encore, sur les OAV. Ceux-ci sont calculés à partir des concentrations maximales retrouvées dans les différents vins analysés. Trois groupes sont ainsi constitués : groupe A [(*E,E*)-2,4-décadienal ; (*Z*)-4-heptenal ; (*Z*)-4-heptenol] ; groupe B (hexanal ; octanal ; nonanal ; 6-méthyl-5-hepten-2-one) ; groupe C [Décanal ; (*E,E*)-2,6-nonadienal ; (*E,Z*)-2,6-nonadienal ; (*E,E*)-2,4-nonadienal ; (*Z*)-1,5-octadien-3-one]. Ces groupes correspondant respectivement aux OAV de 0,05-0,5 ; 0,5-1 et >1 (**Tableau 47**).

**Tableau 47. Récapitulatif de la constitution des groupes A, B et C mentionnant la concentration ajoutée et l'OAV (ratio concentration/seuil de détection théorique dans l'eau) pour chacun des composés.**

| A                            |                      |                      |                      |                         |                        |
|------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|
|                              | (E,E)-2,4-Decadienal | (Z)-4-Heptenal       | (Z)-4-Heptenol       |                         |                        |
| Concentration ajoutée (ng/L) | 20                   | 10                   | 12000                |                         |                        |
| OAV                          | 0,43                 | 0,05                 | -                    |                         |                        |
| B                            |                      |                      |                      |                         |                        |
|                              | Hexanal              | Octanal              | Nonanal              | 6-methyl-5-hepten-2-one |                        |
| Concentration ajoutée (ng/L) | 4000                 | 650                  | 850                  | 2000                    |                        |
| OAV                          | 0,89                 | 0,93                 | 0,85                 | 0,8                     |                        |
| C                            |                      |                      |                      |                         |                        |
|                              | Decanal              | (E,E)-2,6-Nonadienal | (E,Z)-2,6-Nonadienal | (E,E)-2,4-Nonadienal    | (Z)-1,5-octadien-3-one |
| Concentration ajoutée (ng/L) | 350                  | 12                   | 15                   | 6                       | 12                     |
| OAV                          | 3,50                 | -                    | 8,33                 | 3,53                    | 12,3                   |

\* L'OAV de la 6-methyl-5-hepten-2-one a été calculé à partir de sa concentration d'impact dans le vin selon Riboul, (2013) ; pour le (Z)-4-heptenol, le test réalisé était antérieur à la détermination de son seuil de détection olfactive dans le vin, raison pour laquelle il n'a pas été mentionné.

Une première série de 7 tests triangulaires a été réalisée par le *panel 10* dans l'objectif d'estimer l'impact individuel de ces groupes à la concentration maximale en chacun des composés mesurée dans les vins, mais aussi à une concentration divisée par deux (**Tableau 48**).

**Tableau 48. Résultats des tests triangulaires obtenus à partir de l'addition des groupes A, B ou C dans le vin rouge (témoin).**

| Échantillons comparés |                | Réponse + | Réponse - | p-valeur | Différence |
|-----------------------|----------------|-----------|-----------|----------|------------|
| Témoin                | Témoin + A     | 19        | 4         | 1,66E-06 | ***        |
| Témoin                | Témoin + B     | 8         | 15        | 0,52     | -          |
| Témoin                | Témoin + C     | 18        | 5         | 1,31E-05 | ***        |
| Témoin                | Témoin + ABC   | 16        | 1         | 2,71E-07 | ***        |
| Témoin                | Témoin + A/2   | 17        | 2         | 6,22E-07 | ***        |
| Témoin                | Témoin + C/2   | 14        | 5         | 0,00038  | ***        |
| Témoin                | Témoin + ABC/2 | 15        | 2         | 4,48E-06 | ***        |

\* Différence significative au seuil de 0,1 % (\*\*\*)

Ces tests montrent l'impact sensoriel des groupes A et C supplémentés aux concentrations maximales, mais révèlent, dans un même temps, l'absence d'impact olfactif des composés du groupe B. De plus, l'impact sensoriel des groupes A et C reste maintenu à concentration médiane. En vue de considérer les interactions de ces groupes de molécules entre elles, une série complémentaire de 7 tests triangulaires a donc été menée avec le même panel (Tableau 49).

**Tableau 49. Résultats des tests triangulaires obtenus à partir de l'addition des groupes A, B ou C dans un vin rouge (témoin) contenant un ou plusieurs autres groupes.**

| Échantillons comparés    |              | Réponse + | Réponse - | p-valeur | Différence |
|--------------------------|--------------|-----------|-----------|----------|------------|
| <i>Effet du groupe A</i> |              |           |           |          |            |
| Témoin + B               | Témoin + AB  | 13        | 4         | 0,00034  | ***        |
| Témoin + C               | Témoin + AC  | 19        | 4         | 1,66E-06 | ***        |
| <i>Effet du groupe B</i> |              |           |           |          |            |
| Témoin + A               | Témoin + AB  | 11        | 12        | 0,11     | -          |
| Témoin + C               | Témoin + BC  | 8         | 15        | 0,52     | -          |
| Témoin + AC              | Témoin + ABC | 9         | 8         | 0,075    | -          |
| Témoin + AC              | Témoin + ABC | 8         | 9         | 0,17     | -          |
| <i>Effet du groupe C</i> |              |           |           |          |            |
| Témoin + A               | Témoin + AC  | 12        | 11        | 0,048    | *          |

\* Différence significative au seuil de 5 % (\*) et 0,1 % (\*\*\*)

Les 5 combinaisons testées confirment l'absence d'impact sensoriel du groupe B : aucun des tests triangulaires n'est significatif. De plus, les composés présents dans ce groupe n'engendrent aucun effet de synergie avec les composés des autres groupes. Ces résultats sont cohérents avec nos observations précédentes : les aldéhydes que sont l'hexanal, l'octanal et le nonanal, contenus dans ce groupe, ne suffisant pas à engendrer une différence significative sur les notes d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse » pour le vin *CS\_Mat+15(G)*. En revanche, les tests triangulaires confirment l'impact des groupes A et C, et ce, malgré la présence des autres groupes dans le témoin.

Nous observons notamment que l'addition d'un groupe d'impact sur un autre groupe d'impact engendre une nouvelle différence significative ; par exemple, l'addition du groupe A au vin contenant déjà le groupe B assure une différenciation des échantillons, et réciproquement. Il n'y a donc pas d'effet de masquage entre ces deux groupes.

L'influence respective des composés présents dans le groupe C a ensuite été précisée par 3 tests triangulaires réalisés par le *panel 11* (**Tableau 50**).

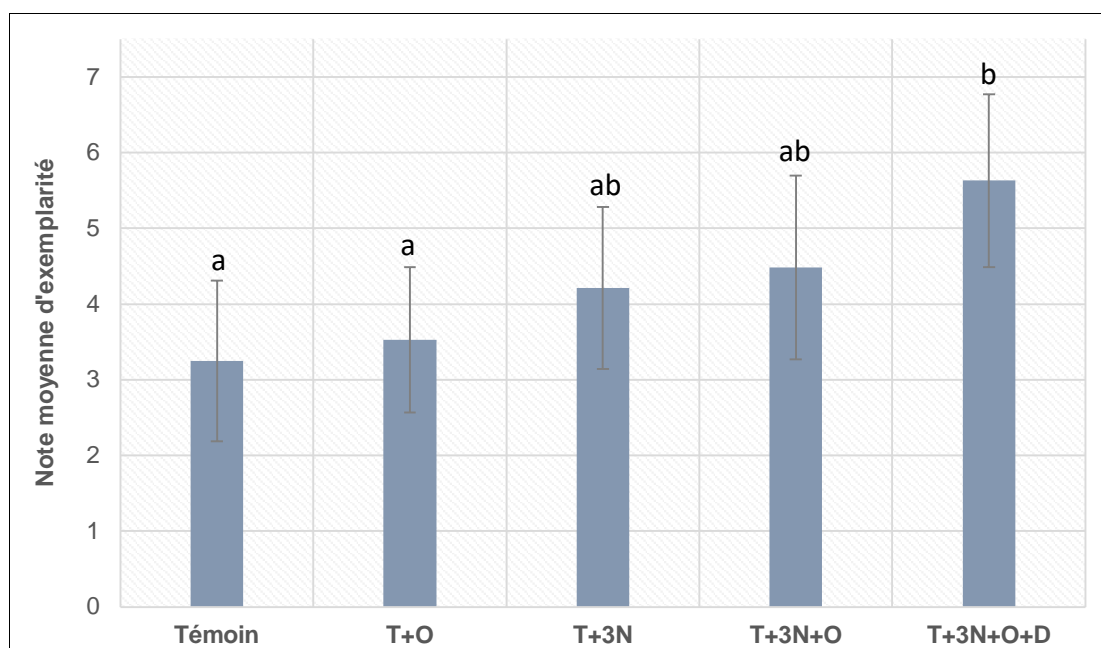
**Tableau 50. Résultats des tests triangulaires obtenus à partir de l'addition dans le vin rouge (témoin) des composés présents dans le groupe C : (E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal (3N) ; (Z)-1,5-octadien-3-one (O).**

| Échantillons comparés |               | Réponse + | Réponse - | p-valeur | Différence |
|-----------------------|---------------|-----------|-----------|----------|------------|
| Témoin                | Témoin + 3N   | 4         | 15        | 0,92     | -          |
| Témoin                | Témoin + 3N+O | 12        | 7         | 0,0074   | **         |
| Témoin                | Témoin + O    | 12        | 7         | 0,0074   | **         |

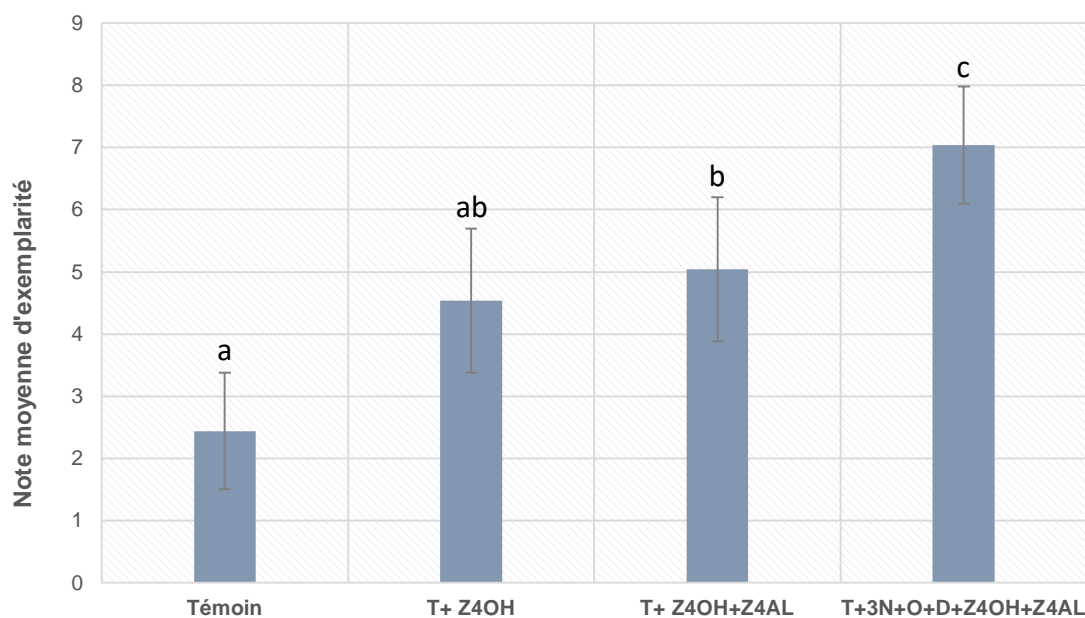
\* Différence significative au seuil de 1 % (\*\*)

L'ajout des trois alkadienals en C9 (3N) ne suffit pas à engendrer une différence significative, contrairement à l'addition de (Z)-1,5-octadien-3-one à 12 ng/L.

Afin de vérifier si les différences olfactives conférées par les composés rejoignent les tonalités aromatiques spécifiques des vins de presse, un vin rouge témoin (Bordeaux, qualité ordinaire) a été supplémenté aux concentrations maximales des constituants du groupe C (**Tableau 47**) selon plusieurs modalités. Celles-ci ont ensuite été évaluées par le *panel 11* sur le critère de leur degré d'exemplarité à la catégorie aromatique des vins de presse (**Figure 74**). Dans ce cas, la 1,5-octadien-3-one ne suffit pas à accroître les nuances spécifiques au vin de presse ; la tendance augmente à partir de l'ajout des 3 alkadienals en C9 (3N), mais ne devient véritablement significative qu'en présence du décanal. Malgré que la variation avec le pressurage de cet aldéhyde saturé en C10 soit apparue comme modérée (**chapitre 9**), les concentrations relativement importantes qui peuvent être observées dans la goutte et dans la presse pourront alors constituer une pièce maîtresse permettant de recréer l'objet sensoriel « vin de presse ».



**Figure 74.** Intensité moyenne d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse ». (*E,E*)-2,6-nonadienal ; (*E,Z*)-2,6-nonadienal ; (*E,E*)-2,4-nonadienal (3N) ; (*Z*)-1,5-octadien-3-one (O) ; décanal (D). La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95 %. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$  valeur < 0,05)



**Figure 75.** Note moyenne d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse ». (*Z*)-4-heptenol (Z4OH) ; (*Z*)-4-heptenal (Z4AL) ; (*E,E*)-2,6-nonadienal ; (*E,Z*)-2,6-nonadienal ; (*E,E*)-2,4-nonadienal (3N) ; (*Z*)-1,5-octadien-3-one (O) ; décanal (D). La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95 %. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$  valeur < 0,05)

Enfin, le (Z)-4-heptenol et le (Z)-4-heptenal, associés au groupe A, ont également été considérés seuls, puis en association avec les composés d'impact du groupe C (**Figure 75**). L'ajout de 12 µg/L de (Z)-4-heptenol, proche de sa valeur seuil, engendre une augmentation à la limite de la significativité quant à la perception du caractère « vin de presse ». De même, et conformément aux observations réalisées sur les tests triangulaires (**Tableau 48-50**), cette contribution est renforcée de manière significative par l'ajout de 10 ng/L de son aldéhyde correspondant, mais aussi par les composés du groupe C : alkadienals (3N), décanal et 1,5-octadien-3-one. Ce type d'accord odorant, apte à reproduire une part de l'odeur spécifique des vins de presse (intensité moyenne de 7,03 sur une échelle de notation de 10), s'apparente finalement à celui observé dans la formation de l'odeur de poisson : (Z)-4-heptenal, (E,Z)-2,6-nonadienal et (E,E)-2,4-heptadienal (Venkateshwarlu *et al.*, 2004).

## 4. CONCLUSION

Ce chapitre a donc permis de souligner la complexité de la catégorie aromatique des vins de presse qui résulte de multiples changements de concentration de composés aromatiques, dont chacun, pris individuellement, ne peut suffire à expliquer l'apparition des nuances caractéristiques. Par une approche basée sur une hiérarchisation sensorielle, nous avons pu montrer l'importance de certains groupes de composés, aux caractéristiques végétales, dans l'apparition des tonalités propre aux vins de presse. Ainsi, nous confirmons la contribution du (Z)-4-heptenol, et son aldéhyde, le (Z)-4-heptenal, des aldéhydes insaturés en C9 au fort pouvoir odorant [(E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal], de la (Z)-1,5-octadien-3-one ainsi que du décanal dans l'apparition des nuances spécifiques de ces vins. Cette influence a été attestée à la concentration maximale de chacun des composés, mais également à demi-concentration.

Dans la réalité œnologique, les nuances exprimées seront très probablement modulées par les proportions des molécules odorantes en présence. De plus, les équilibres entre chacun des composés dépendront certainement de la matière première (raisin et marc) et des procédés technologiques (conditions de fermentation, type de pressurage, actions sur le marc au cours de la vinification, conditions d'élevage, ajout de dioxyde de soufre, etc.). L'étude de quelques-uns de ces facteurs de variation potentiels a été présentée dans le chapitre suivant.

# **Chapitre 11. Influence de paramètres technologiques sur la composante aromatique des vins de presse**

## **1. INTRODUCTION**

Comme nous l'avons vu précédemment, les vins de presse possèdent un espace sensoriel propre dominé par les nuances végétales et qui les différencie des vins de goutte (**chapitre 7**). Des molécules volatiles appartenant à différentes familles chimiques peuvent contribuer à ce caractère (**chapitre 8, 9, 10**). Aussi, ce dernier chapitre a concerné l'impact de pratiques technologiques sur l'expression aromatique de ces vins, souvent perçue de manière péjorative par les vinificateurs, et sur l'évolution des composés odorants qui lui sont associés.

Pour cela, une approche analytique puis sensorielle a été développée autour d'expérimentations mises en œuvre dans des propriétés viticoles de la région bordelaise sur plusieurs millésimes. 4 facteurs principaux ont été considérés dans les modalités d'extraction et de vinification : le niveau de pression, l'inertage du marc lors du pressurage, la réalisation de la fermentation malolactique, le sulfitage des vins.



## 2. INFLUENCE DE PARAMÈTRES TECHNOLOGIQUES SUR LES CONCENTRATIONS EN COMPOSÉS VOLATILS

### 2.1. Influence du pressurage sur le niveau de concentration des alcools en C6 dans les vins

Il est couramment admis, par les professionnels du vin, que certaines nuances végétales des vins de presse rappelant l'herbe coupée soient imputables aux alcools en C6, porteurs de ces mêmes nuances. D'ailleurs, au cours du pressurage des raisins destinés à l'élaboration de vins blancs ou de vins rouges, les teneurs en alcools en C6 et aldéhydes en C6 augmentent avec l'intensité du pressurage. L'origine de cette augmentation est due à l'oxydation enzymatique d'acides gras insaturés du raisin par les lipoxygénases de la baie (Crouzet *et al.*, 1986). En absence d'oxygène, le niveau de concentration de ces molécules reste stable. Bien qu'elles n'aient pas été associées à des zones odorantes spécifiques des vins de presse (**chapitre 8**), nous avons cherché à vérifier si leur niveau d'abondance dans les vins rouges était associé à l'intensité du pressurage.

Ainsi, l'hexanol, le (*E*)-2-hexenol, (*Z*)-2-hexenol, (*E*)-3-hexenol et (*Z*)-3-hexenol ont été quantifiées dans un grand nombre d'échantillons, obtenus au cours de 3 millésimes (2013, 2014, 2015), 2 cépages (Merlot, Cabernet-Sauvignon) et 4 propriétés du Bordelais. Au total, 7 séries comprenant chacune 5 vins (un vin d'égouttage depuis la cuve de vinification puis 4 vins de « presse » correspondants à des paliers de pression croissants : P1, P2, P3, P4) ont été étudiées (**Figure 76**).

La représentation en boîte de Tukey montre la dispersion des valeurs pour chacune des modalités analysées. Ainsi, les concentrations du (*E*)-3-hexenol présentent une très faible variabilité centrée autour d'une médiane proche 50 µg/L, tandis que les concentrations en (*Z*)-3-hexenol et hexanol sont plus dispersées : 10-100 µg/L et 350-850 µg/L respectivement. Toutefois, la variabilité dans les niveaux de concentration de ces 3 composés n'a aucun lien avec le pressurage : les médianes et les moyennes de concentrations ces trois composés sont similaires dans chacune des modalités. En revanche, si la même observation se confirme pour le (*Z*)-2-hexenol, il n'en ait pas de même en ce qui concerne son diastérisomère, le (*E*)-2-hexenol (**Figure 77**).

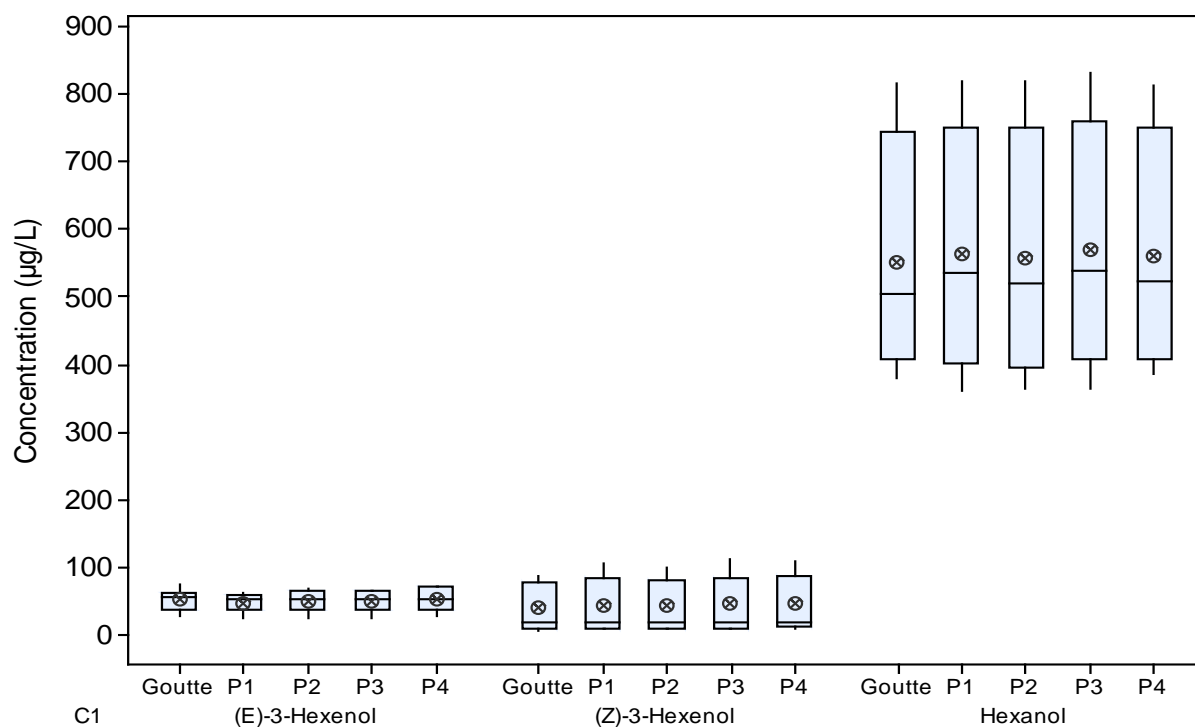


Figure 76. Distribution des concentrations en (E)-3-hexenol, (Z)-3-hexenol et hexanol (µg/L) dans l'échantillonnage de vins analysés (n = 35 vins ; 7 vins par modalité de pressurage). Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey. Paliers de pression : P1 à P4.

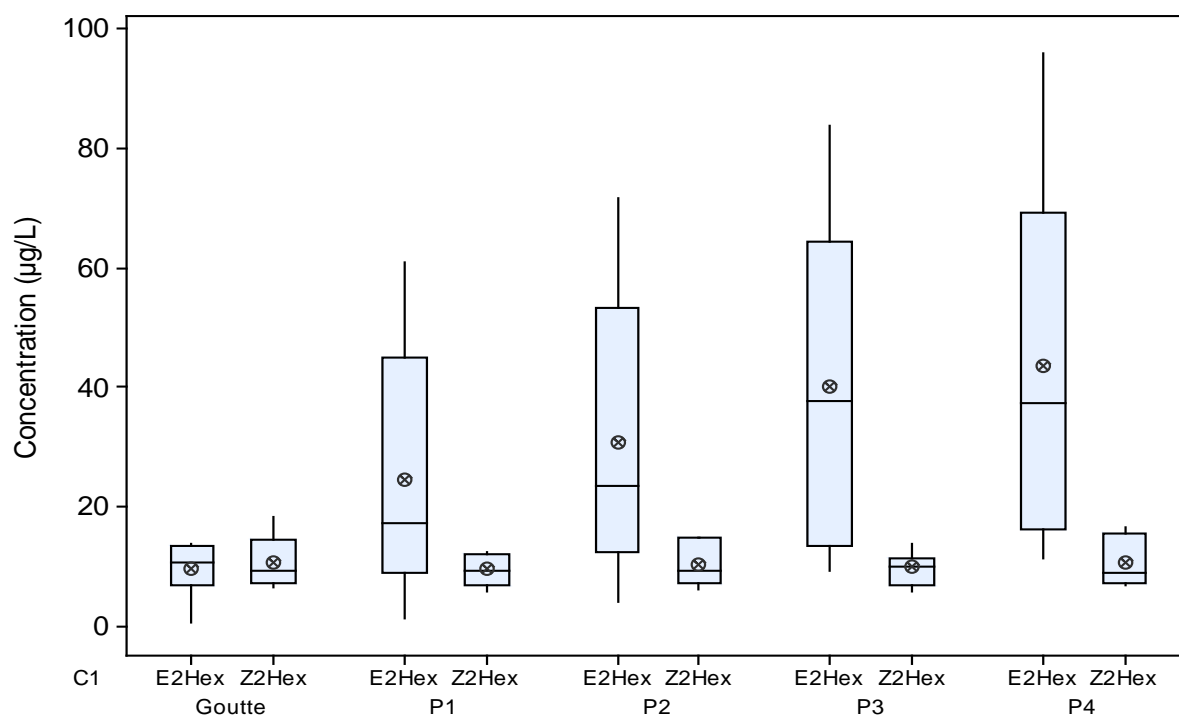


Figure 77. Distribution des concentrations en (E)-2-hexenol et (Z)-2-hexenol (µg/L) dans l'échantillonnage de vins analysés (n = 35 vins ; 7 vins par modalité de pressurage). Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey. Paliers de pression : P1 à P4.

A l'inverse des autres alcools en C6, le (*E*)-2-hexenol voit sa concentration s'accroître au cours du pressurage pour atteindre des maxima dans les vins issus des derniers paliers de pression (P4, 2 bars) : concentration maximale de 95,8 µg/L ; valeurs médiane et moyenne de 37,7 µg/L et 43,4 µg/L, respectivement. Ce composé se présente alors comme un marqueur moléculaire du niveau de pressurage sur une série donnée (**Figure 78**). Néanmoins, compte tenu de la concentration seuil du (*E*)-2-hexenol à 400 µg/L dans l'eau, et en accord avec les expériences d'addition réalisées au cours du **chapitre 3**, la contribution de ce composé à l'odeur des vins de presse reste très limitée.

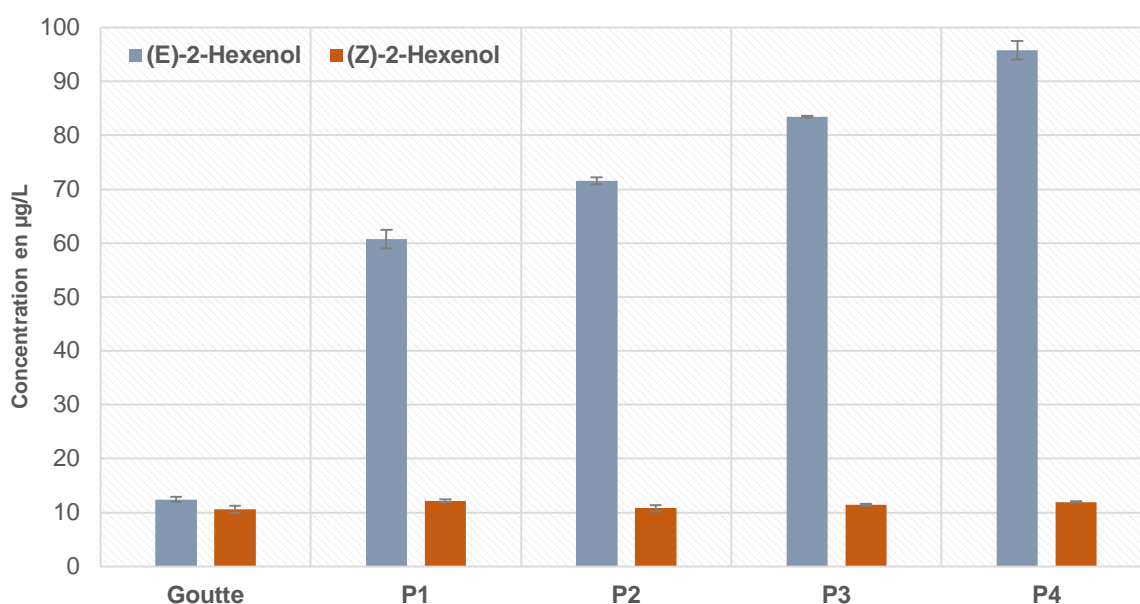
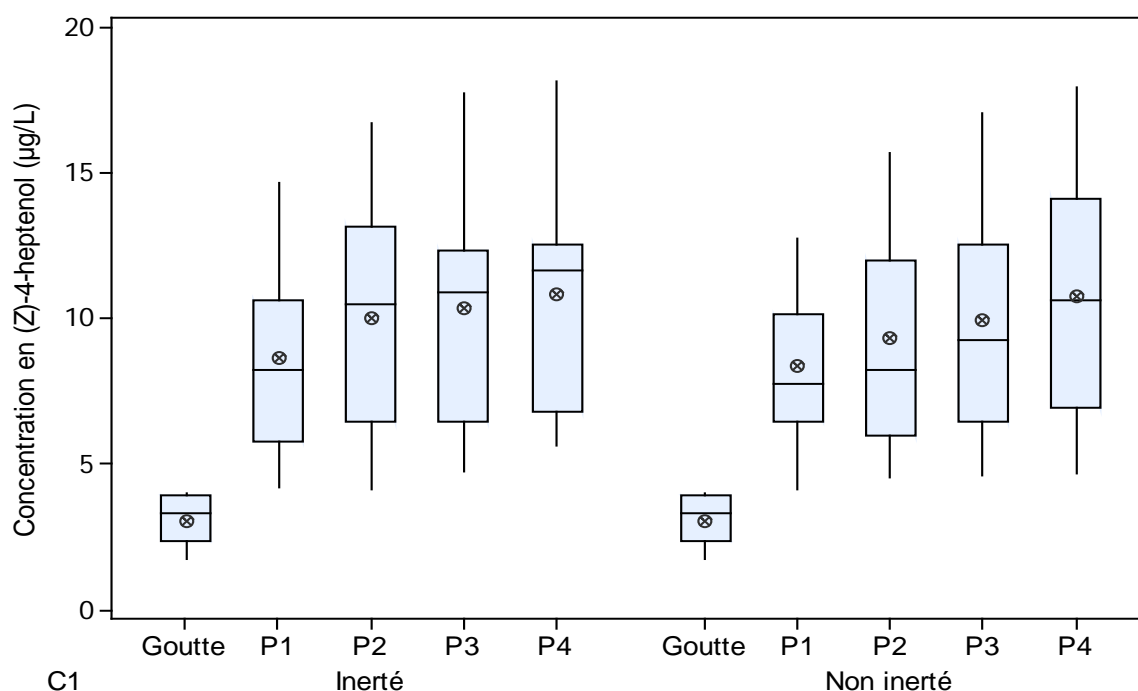


Figure 78. Concentration en (*E*)-2-hexenol et (*Z*)-2-hexenol sur une série « type » (Pessac-Léognan HB14, CS). Paliers de pression : P1 à P4.

## 2.2. Influence du pressurage et de l'inertage sur les teneurs en (*Z*)-4-heptenol dans les vins

Préalablement, nous avons établi que les concentrations en (*Z*)-4-heptenol augmentaient dans les vins au cours du pressurage **chapitre 8**. Afin de compléter cette observation qui repose sur un unique modèle, l'estimation de ses teneurs a donc été réalisée, tous comme les alcools en C6, dans les séries d'échantillons issus des 7 propriétés viticoles. Les données ont également été représentées sous la forme de boîtes de Tukey (**Figure 79**).

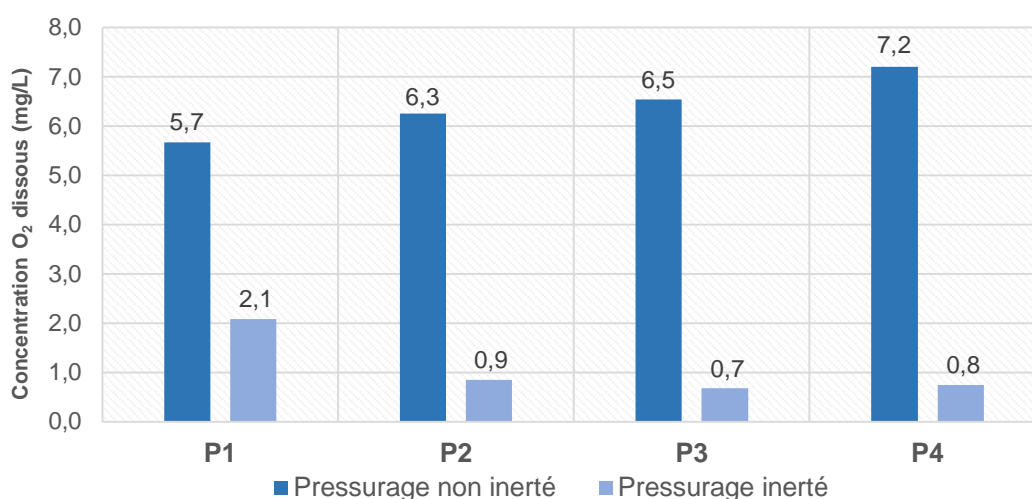


**Figure 79.** Distribution des concentrations en (Z)-4-heptenol (µg/L) dans l'échantillonnage de vins analysés comprenant les modalités de pressurage inertées et non inertées (n = 63 vins, 7 vins par modalité de pressurage). Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey. Paliers de pression : P1 à P4.

Ces analyses montrent une augmentation significative du (Z)-4-heptenol au cours du pressurage. Elles révèlent aussi qu'aucune concentration des vins de gouttes analysés n'atteint celles des vins de presse. Ce composé apparaît donc bien comme un marqueur moléculaire discriminant les deux types de vins.

Comme le suggère Wanikawa *et al.* (2002), le 4-heptenol proviendrait de la dégradation oxydative des lipides membranaires. Ainsi, la question de l'application d'un pressoir inerté sous azote afin de limiter la formation du (Z)-4-heptenol et son impact sensoriel sur les vins de presse a alors été posée. Afin de mesurer l'effet de l'inertage sur son évolution, les quantifications ont été réalisées dans les modalités inertées réalisées simultanément sur chacun des marcs. La comparaison entre les deux modalités sur les différents paliers ne montre aucune différence significative concernant les teneurs en (Z)-4-heptenol ( $p\text{-valeur} > 0,05$  ; test de Student). Malgré l'inertage du pressoir, la concentration moyenne augmente de manière très similaire au cours du pressurage. De même, les teneurs maximales retrouvées sont les mêmes. Il est donc possible que la trituration et l'oxygénation du marc au moment du décuvage et de son entrée dans le pressoir suffisent à générer cette molécule.

Malgré qu'elle soit à un niveau très bas ( $< 1$  mg/L), la teneur résiduelle en oxygène dissous dans les vins (**Figure 80**) suggère aussi que les faibles concentrations en oxygène dissous mesurées au cours du pressurage inerté pourraient suffire à la formation du (Z)-4-heptenol. Mais il est également possible que cette augmentation provienne exclusivement d'un phénomène extractif.

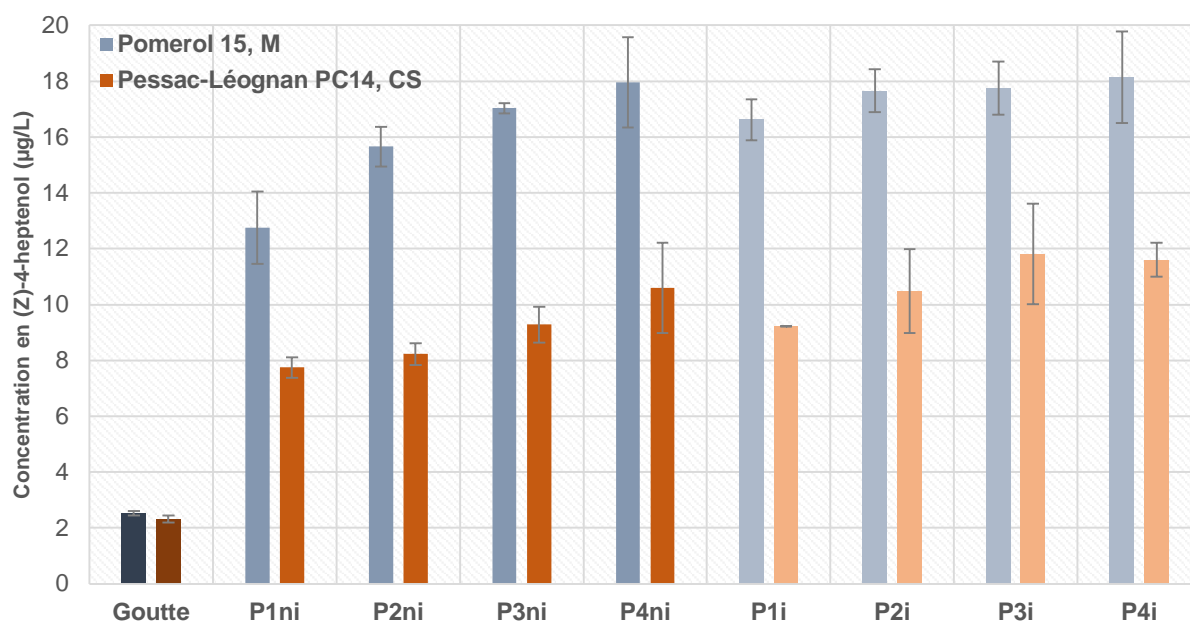


**Figure 80.** Concentration en oxygène dissous des vins collectés aux différents paliers de pression (P1 à P4) au cours d'un pressurage inerté et non inerté.

Ainsi, malgré l'intérêt certain que présente cette technologie pour limiter le contact du marc avec l'oxygène, elle ne semble pas en mesure d'intervenir de manière significative sur la réduction des concentrations en (Z)-4-heptenol générées au cours du pressurage. Cette analyse rejoint finalement des observations que nous avons réalisées sur les thiols volatils (3-SH et A3-SH) ou sur la 3-méthyl-2,4-nonanedione (MND) et dans lesquelles aucune tendance réelle n'a été établie avec le pressurage ou l'inertage des marcs (résultats non communiqués).

De plus, dans les niveaux de pression P3 et P4, les valeurs moyennes et médianes pour le (Z)-4-heptenol sont proches du seuil de détection olfactive dans le vin rouge de  $12,6 \mu\text{g/L}$ , déterminés dans le chapitre précédent. Rappelons que l'augmentation des notes d'exemplarité à la catégorie aromatique des vins de presse a été démontrée à ces concentrations, et particulièrement lorsque ce composé est associé à son aldéhyde, le (Z)-4-heptenal (**chapitre 10**). Qui plus est, les concentrations maximales retrouvées sur la totalité des paliers (de  $12,7$  à  $17,9 \mu\text{g/L}$ ) dépassent le seuil de détection olfactive du composé.

Ces résultats confirment donc l'évolution et la contribution sensorielle du (Z)-4-heptenol à l'arôme des vins de presse rouge, avec un impact aromatique qui s'accroît au cours du cycle de pressurage, inerté et non, comme l'illustre la **Figure 81** sur deux séries « types » constituées de Merlot et de Cabernet Sauvignon des millésimes 2014 et 2015.



**Figure 81.** Concentrations en (Z)-4-heptenol sur une série « type » (*Pessac-Léognan HB14, CS*). Paliers de pression : P1 à P4.

### 2.3. Influence de la pression, de l'inertage, du sulfitage et de la FML sur la concentration des composés carbonylés

Les alkanals, alkenals et alkadienals, dont les concentrations sont susceptibles de s'accroître avec le pressurage (**chapitre 9**), et dont l'implication sensorielle de certains a été établie (**chapitre 10**), ont été quantifiés, en 2015, en conditions réelles de pressurage sur un marc de Merlot issus de l'appellation Pomerol (*Pomerol 15, M*) (**Figure 82**).

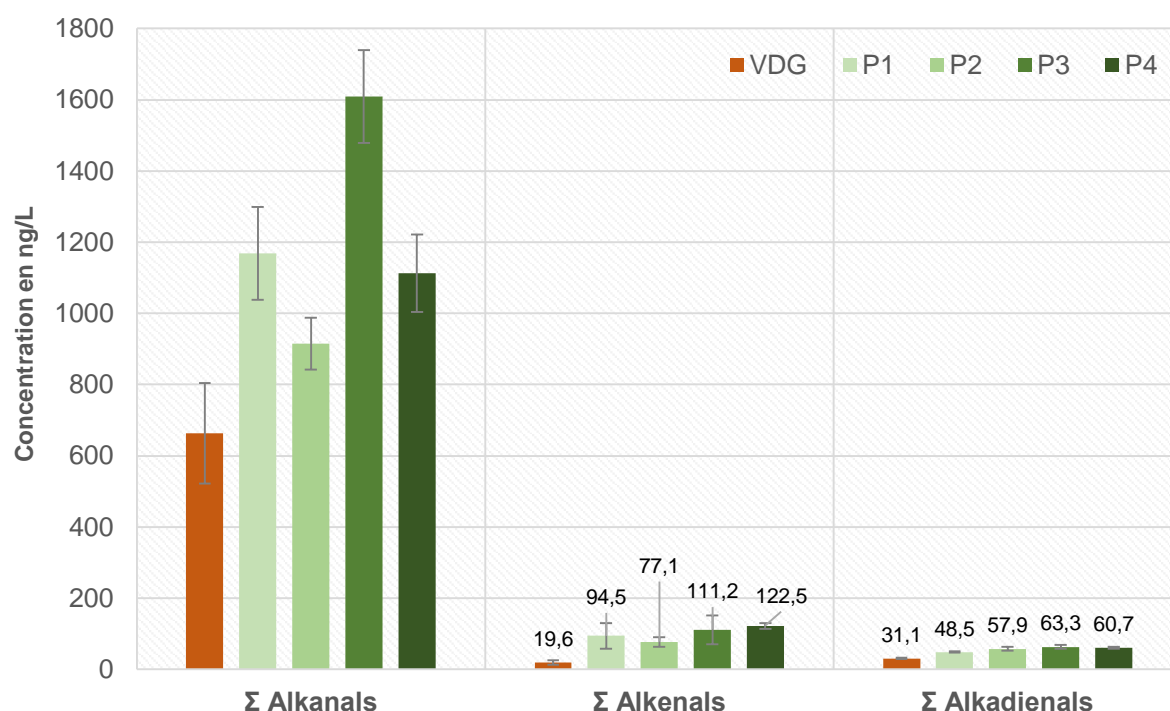


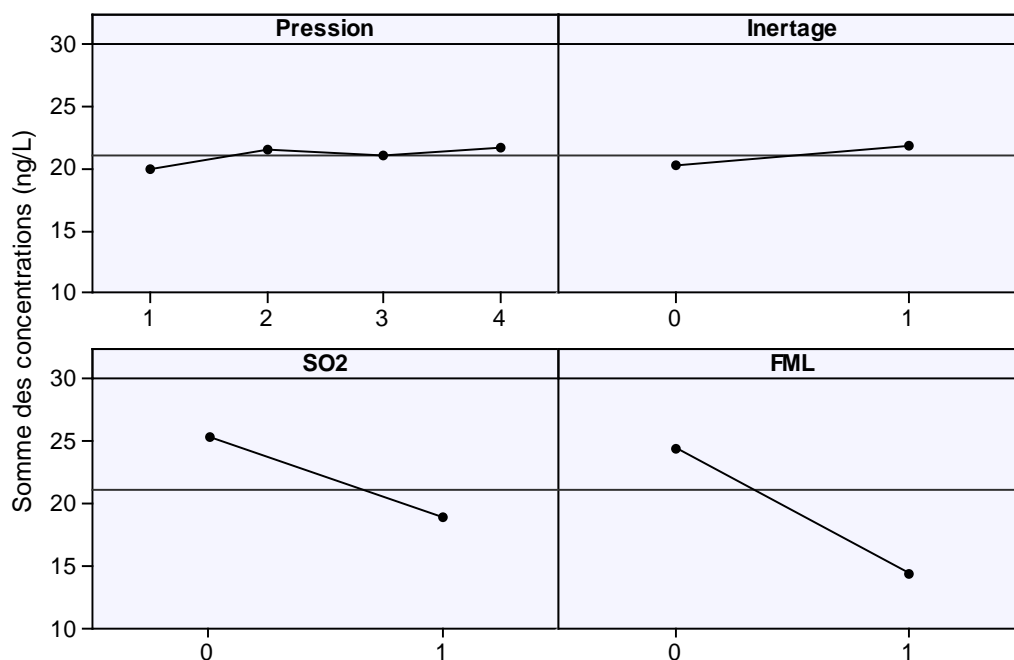
Figure 82. Somme des concentrations en alkanals, alkenals et alkadienals en ng/L (Pomerol 15, M). Paliers de pression : P1 à P4.

Les résultats, exprimés en somme de concentrations des composés regroupés par degré d'insaturation, montrent une augmentation de ceux-ci entre le vin de goutte et les vins de presse. Cependant, aucune tendance liée au niveau de pression (P1, P2, P3 et P4) n'est réellement observable.

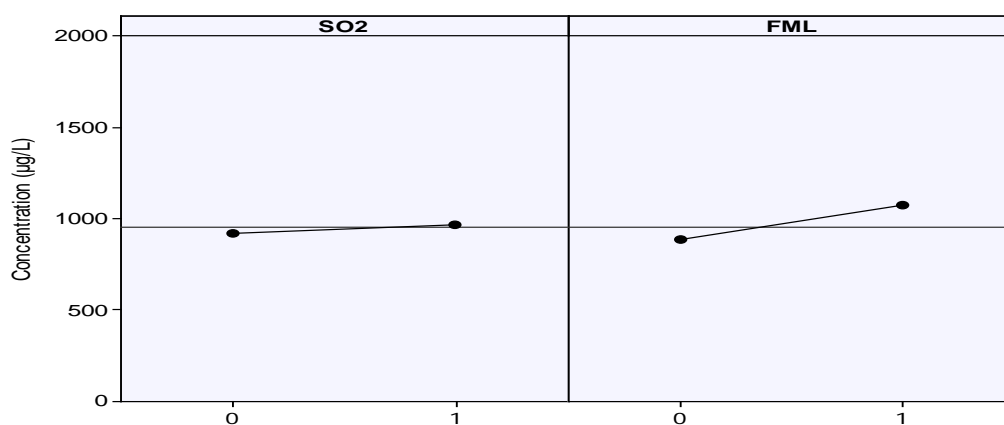
Afin de compléter cette observation, l'analyse des composés selon un plan factoriel à 4 niveaux (pression, inertage, sulfitage, FML) a donc été réalisée sur le même marc de Merlot.

L'absence de tendance quant à l'évolution de ces composés avec la pression est confirmée par le graphique des effets des alkadienals en C9 dont l'impact sensoriel a été établi pour les concentrations rencontrées dans les vins de presse (**chapitre 10**) : (*E,E*)-2,6-nonadienal ; (*E,Z*)-2,6-nonadienal ; (*E,E*)-2,4-nonadienal (**Figure 83**).

Contrairement à ce que nous pourrions penser, l'effet de l'inertage du pressoir ne semble pas non plus avoir d'impact sur la diminution de leur concentration dans le vin de presse.



**Figure 83. Diagramme factoriel des effets sur la somme des concentrations des alkadienals en C9 (ng/L) ; Pomerol 15, M.** Pression : P1, P2, P3, P4. Inertage : 0, non inerté ; 1, inerté. SO2 (50 mg/L) : 0, non sulfité, 1, sulfité. FML : 0, absence ; 1, complète.

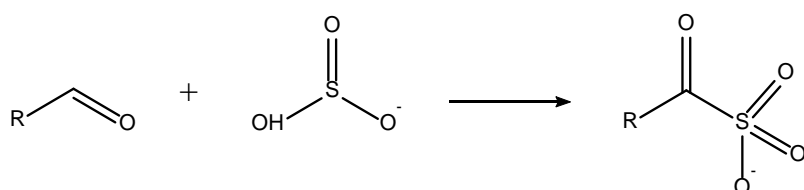


**Figure 84. Diagramme factoriel des effets sur la somme des concentrations des alkanals (ng/L) ; Pomerol 15, M.** SO2 (50 mg/L) : 0, non sulfité, 1, sulfité. FML : 0, absence ; 1, complète.



Les hypothèses formulées quant à cette même observation sur le (Z)-4-heptenol peuvent donc s'appliquer ici pour tenter d'expliquer l'identité du phénomène. Il apparaît toutefois que la concentration de ces composés subit une décroissance marquée par l'effet de la fermentation malolactique et de l'ajout du dioxyde de soufre. Le premier met en lumière la capacité réductrice des bactéries lactiques (*Oenococcus oeni*) sur ces composés insaturés, au même titre que les levures de l'espèce *S. cerevisiae* (Joslin & Ough, 1978 ; Herraiz *et al.*, 1990). L'observation des effets sur les concentrations en alkanals suggère que la réduction ait lieu sur les insaturations (double liaison) puisque, à l'inverse des alkenals et alkadienals, ceux-ci ne subissent aucun effet de la FML (**Figure 84**).

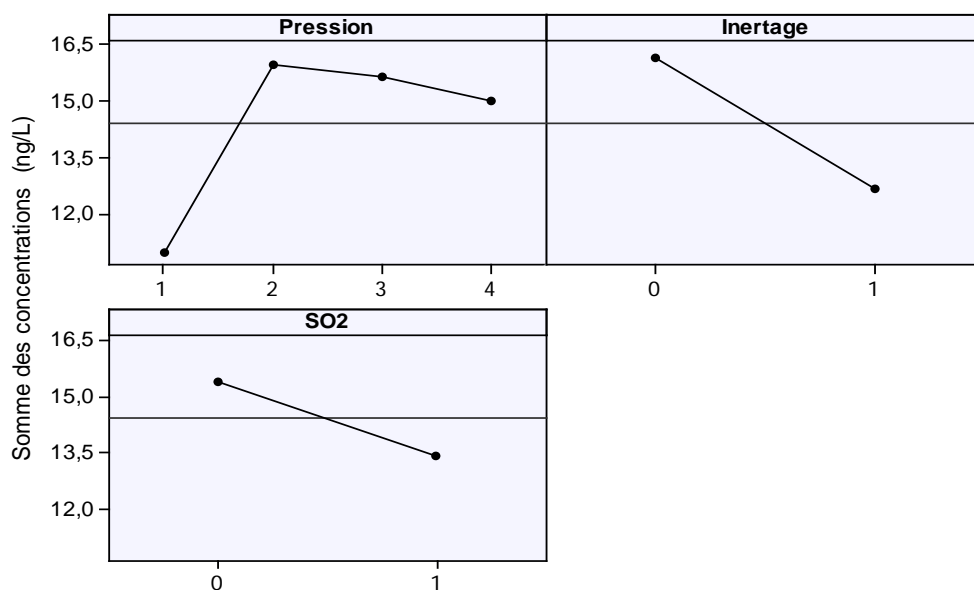
De même, la réactivité des alkanals avec le SO<sub>2</sub>, selon une réaction de combinaison bisulfite (**Figure 85**), apparaît comme pratiquement inexistante.



**Figure 85. Mécanisme réactionnel de combinaison bisulfite.**

Par ailleurs, si l'ajout de SO<sub>2</sub> permet de diminuer de manière significative les composés carbonylés, la réversibilité de la réaction peut conduire à leur libération par l'oxydation des vins, par exemple au cours de l'élevage (Bueno *et al.*, 2016).

Enfin, un plan d'expérience similaire a été réalisé au cours du même millésime sur un marc de Merlot en appellation Bordeaux (*Bordeaux DR15, M*) sur lequel la fermentation malolactique a, cette fois, été réalisée durant la macération post-fermentaire, ce qui explique l'absence de cette modalité (**Figure 86**).



**Figure 86.** Diagramme factoriel des effets sur la somme des concentrations des alkadienals en C9 (ng/L) ; Bordeaux DR15, M. Pression : P1, P2, P3, P4. Inertage : 0, non inerté ; 1, inerté. SO2 (50 mg/L) : 0, non sulfité, 1, sulfité.

À l'inverse des observations sur la première propriété (*Pomerol M, 15*), un effet de la pression et de l'inertage du pressoir peut être observé sur la concentration des alkadienals en C9 des jus de presse : la pression favorisant leur teneur tandis que l'inertage du pressoir la diminue. Cependant, ces observations préliminaires méritent d'être approfondies.

### 2.3.1. Impact du dioxyde de soufre sur les teneurs en (Z)-1,5-octadien-3-one

Des tests d'ajouts dosés de SO<sub>2</sub> (50, 100 et 250 mg/L) dans un vin rouge supplémenté par 150 ng/L de 1,5-octadien-3-one et 100 ng/L de chacun des trois alkadienals en C9 ont été réalisés afin de confirmer ou de préciser l'impact du SO<sub>2</sub> sur ces composés d'impact aromatiques (**Figure 87**).

Après 72 h, la quantification de ces molécules confirme la réactivité des alkadienals en C9 avec le SO<sub>2</sub> ; un ajout de 50 mg/L entraînant une perte d'environ 25 %, proche de celle observée par le plan d'expérience précédent (**Figure 83, 86**). Toutefois, les aldéhydes apparaissent nettement moins réactifs que la (Z)-1,5-octadien-3-one composé pour lequel l'ajout de 50 mg/L de SO<sub>2</sub> entraîne une décroissance de l'ordre de 100 %.

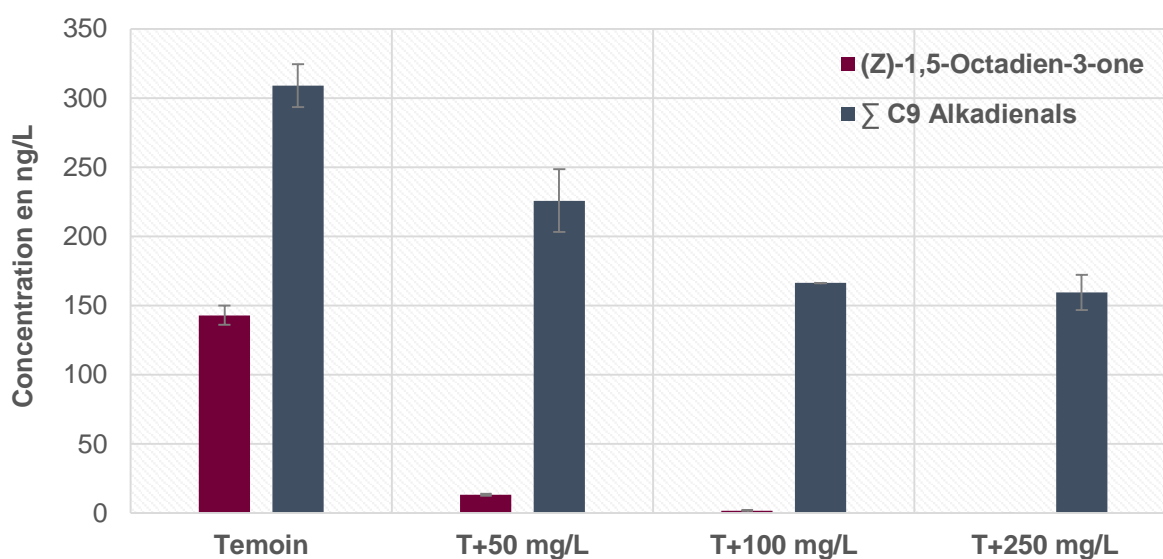
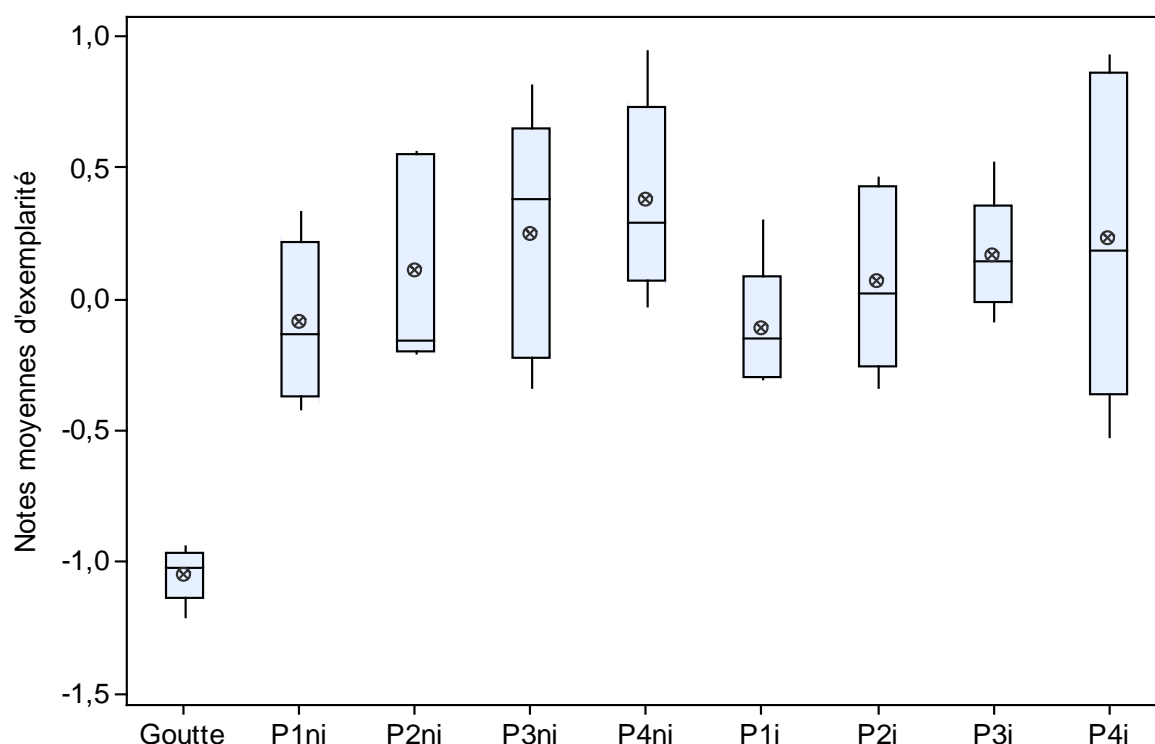


Figure 87. Concentration en (Z)-1,5-octadien-3-one ; (E,E)-2,6-nonadienal ; (E,Z)-2,6-nonadienal ; (E,E)-2,4-nonadienal en solution modèle (témoin) supplémentée par 50, 100 et 250 mg/L de SO<sub>2</sub>.

### 3. INFLUENCE DE PARAMÈTRES TECHNOLOGIQUES SUR L'EXPRESSION AROMATIQUE DES VINS DE PRESSE

Afin de compléter nos observations précédentes quant à l'évolution des marqueurs moléculaires des vins de presse, des analyses sensorielles intégrant les différents facteurs technologiques ont été mises en œuvre. Dans un premier temps, 5 séries intégrant les modalités de pressurage inerté et non inerté issues des millésimes 2013 et 2014 ont été évaluées par les *panels* 12-15 sur la représentativité de leur expression aromatique à la catégorie « vin de presse » (Pessac-Léognan HB13, M ; Pessac-Léognan PC14, M ; Pessac-Léognan PC14, CS ; Pessac-Léognan HB14, CS ; Bordeaux DR14, CS).

L'évaluation a été réalisée après fermentation malolactique et sulfitage des vins à 50 mg/L, 6 mois après leur constitution pour le millésime 2014 et 18 mois après pour le millésime 2013 (Figure 88).



**Figure 88.** Distribution des notes centrée réduite d'exemplarité à la catégorie aromatique « vin de presse » dans l'échantillonnage de vins analysés comprenant les modalités de pressurage inertées (i) et non inertées (ni). Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey. Paliers de pression : P1 à P4.

La représentation en boîtes de Tukey des notes centrées réduites d'exemplarité à la catégorie aromatique « vins de presse » des séries évaluées met en évidence une distinction marquée entre les vins de goutte et les vins de presse. Le vin de goutte n'a obtenu une note moyenne équivalente à celle d'un vin de presse dans aucune des séries. Ce résultat confirme, à la fois l'aptitude de jury à discriminer ces deux types de vins, mais également l'existence de l'espace sensoriel propre aux vins de presse, telle que nous l'avons déjà établi (**chapitre 7**). Nous observons aussi que la moyenne des notes d'intensité perçue du caractère « vin de presse » tend à s'accroître au cours du pressurage avec la montée en pression. Malgré une disparité relativement importante dans les séries, probablement explicable par une difficulté à hiérarchiser les échantillons issus d'un processus continu, les valeurs maximales restent systématiquement atteintes sur les paliers supérieurs (P3 et P4). De plus, nous n'observons aucun effet particulier de l'inertage du pressoir sur ce caractère.

En fait, ces observations rejoignent celles réalisées sur le (Z)-4-heptenol (**Figure 79**) et contrastent avec les observations des manipulateurs qui notent une différence aromatique importante entre les modalités inertées et non inertées au moment du pressurage.

Par ailleurs, nous l'avons vu, le sulfitage et la fermentation malolactique engendrent une diminution de la teneur d'un certain nombre de composés carbonylés d'impact sensoriel. Afin de confirmer ces effets dans l'atténuation des différences perçues entre les modalités inertées et non inertées, une série de tests triangulaires a été réalisée par les *panels* 16, 17, 18 sur le millésime 2015 (*Pomerol 15, M*), quelques jours seulement après l'achèvement des fermentations malolactiques (**Tableau 51**).

**Tableau 51. Résultats des tests triangulaires de l'évaluation orthonasale des modalités de vins *Pomerol 15, M*.**

| Échantillons comparés                       |                      | Réponse + | Réponse - | p-valeur | Différence |
|---|----------------------|-----------|-----------|----------|------------|
| <i>Palier 3</i>                             |                      |           |           |          |            |
| P3i   | P3ni                 | 20        | 19        | 0,015    | *          |
| P3i+SO <sub>2</sub>                         | P3ni+SO <sub>2</sub> | 16        | 23        | 0,20     | -          |
| P3i   | P3ni+SO <sub>2</sub> | 15        | 24        | 0,3      | -          |
| <i>Palier 4</i>                             |                      |           |           |          |            |
| P4i   | P4ni                 | 9         | 6         | 0,03     | *          |
| P4i+SO <sub>2</sub>                         | P4ni+SO <sub>2</sub> | 6         | 9         | 0,38     | -          |
| P4i   | P4ni+SO <sub>2</sub> | 8         | 7         | 0,09     | -          |
| <i>Après FML et ajout de SO<sub>2</sub></i> |                      |           |           |          |            |
| P1i   | P1ni                 | 10        | 11        | 0,12     | -          |
| P2i   | P2ni                 | 9         | 12        | 0,24     | -          |
| P3i   | P3ni                 | 8         | 13        | 0,40     | -          |
| P4i   | P4ni                 | 8         | 13        | 0,40     | -          |

\* Différence significative au seuil de 5 % (\*).

En l'absence de dioxyde de soufre, les paliers élevés (P3, P4), dont l'intensité du caractère « vin de presse » est la plus prononcée (**Figure 88**), diffèrent entre les modalités inertées et non inertées. Ces résultats rejoignent donc les observations réalisées à la sortie du pressoir. Toutefois, l'ajout de 50 mg/L de SO<sub>2</sub> engendre une perte de la différence entre ces deux modalités.

De même, après fermentation malolactique et sulfitage (50 mg/L), aucune différence significative n'a pu être observée entre les modalités inertées ou non, quel que soit le niveau de pressurage. Comme nous l'avons vu, il est donc parfaitement probable que des composés carbonylés, générés en plus grand nombre lors d'un pressurage non inerté, se retrouvent à des niveaux identiques après avoir subi un lissage par ces deux facteurs technologiques. Toutefois, cet effet n'est pas suffisant pour faire disparaître l'écart aromatique entre le vin de goutte et le vin de presse (**Figure 88**), de par le maintien de différences sur un certain nombre d'alkadienals ou alkadienone (**Figure 82**), ou de par l'absence de réactivité de certains composés avec ces facteurs technologiques.

## 4. CONCLUSION

Les analyses quantitatives réalisées dans ce chapitre à partir d'expérimentations menées dans plusieurs propriétés ont révélé que, à l'inverse des phénomènes observés au cours du pressurage des vins blancs, les alcools en C6 ne subissent aucune variation particulière avec le pressurage des vins rouges, à l'exception du (*E*)-2-hexenol qui augmente avec le niveau de pression et, de fait, constitue un marqueur de l'intensité du pressurage. Cependant, les niveaux maxima de concentration atteints pour ce composé, compte tenu de son impact sensoriel, ne permettent pas de le considérer contributeur des notes aromatiques des vins de presse. En revanche, la variation similaire du (*Z*)-4-heptenol confirme sa qualité de marqueur moléculaire des vins de presse et sa contribution à leur spécificité aromatique. Toutefois, l'inertage des pressoirs ne semble pas être en mesure d'influer sur sa concentration. Ainsi, ce composé, par son évolution, rejoint les observations sensorielles quant à une tendance d'augmentation de l'intensité perçue du caractère « vin de presse » au cours du pressurage, inerté ou non.

L'étude de la variation des composés carbonylés d'impact olfactif (alkadienals en C9 et alkadienone) a montré qu'un effet bénéfique (réduction) par l'inertage pouvait parfois être observé sur les alkadienals. Cependant, leur forte réactivité avec le SO<sub>2</sub> et la fermentation malolactique conduit à une nette diminution de ceux-ci, probablement à l'origine d'une partie de l'effet de lissage sensoriel observé entre les modalités inertées et non inertées. Ces deux facteurs apparaissent alors comme des leviers d'actions intéressants pour la diminution de certains composés carbonylés dont l'implication dans le caractère presse a pu être démontrée.

Bien que le premier soit systématique (ou presque) dans la vinification des vins rouges, le second facteur, la FML, peut être réalisé avant l'écoulage des jus et le pressurage des marcs ; privant ainsi le vinificateur de ce potentiel effet bénéfique.

Malgré tout, s'ils suffisent à gommer les écarts sensoriels obtenus entre des modalités inertées et non inertées du pressoir, ces deux facteurs n'éliminent pas totalement la différence aromatique entre le vin de goutte et le vin de presse, probablement parce que certains composés d'impact générés au cours du pressurage, tel que le (Z)-4-heptenol ou d'autres non caractérisés à ce jour, ont une réaction limitée à leur égard. En considération de cela, et au regard des résultats sensoriels, nous ne pouvons que recommander aux vinificateurs, dans la mesure du possible, d'isoler les bas niveaux de pression (P1 voire P2) des niveaux supérieurs (P3, P4). Rappelons enfin que, comme le formulait Emile Peynaud (Peynaud, 1981), la dépréciation qualitative des vins de presse au cours du pressurage sera probablement sous la dépendance de la qualité de la vendange, ainsi que des actions réalisées en amont sur le marc. Ces variables n'ont pas été considérées dans notre étude qui s'est attachée à isoler le processus du pressurage ; leur considération constitue une perspective de recherche intéressante.

# **QUATRIÈME PARTIE :**

## **PARAMÈTRES ENVIRONNEMENTAUX ET COMPOSANTE AROMATIQUE VÉGÉTALE**



# **Chapitre 12. Mise en évidence d'une origine exogène du 1,8-cinéole**

## **1. INTRODUCTION**

Dans la deuxième partie de ce manuscrit, nous avons établi une origine variétale du 1,8-cinéole dans les vins de Cabernet Sauvignon et d'autres cépages de la famille des Carmenets, en particulier le Fer Servadou. Cette origine variétale a été attestée par l'évolution des teneurs en 1,8-cinéole au cours du cycle végétatif du Cabernet Sauvignon et du Merlot, en particulier pendant la maturation des raisins.

Ainsi, une origine autre que celle exogène due à la présence d'eucalyptus dans les vignobles californiens (Hervé *et al.*, 2003) ou australiens (Capone *et al.*, 2011 ; 2012) a été démontrée pour les vins produits en Europe.

Bien que les concentrations en 1,8-cinéole dans les vins de Cabernet-Sauvignon se situent généralement autour ou en dessous du seuil d'impact olfactif de ce composé dans les vins de Bordeaux, estimée au-delà de 0,7 µg/L, 3 vins commerciaux provenant de la même propriété viticole de l'appellation Pauillac (PT09, PT10, PT14), sélectionnés pour leur expression aromatique de type « végétal frais », « mentholé », ont retenu notre attention par leurs concentrations proportionnellement importantes, à savoir 1,04 ; 2,24 et 2,38 µg/L (**chapitre 5**).

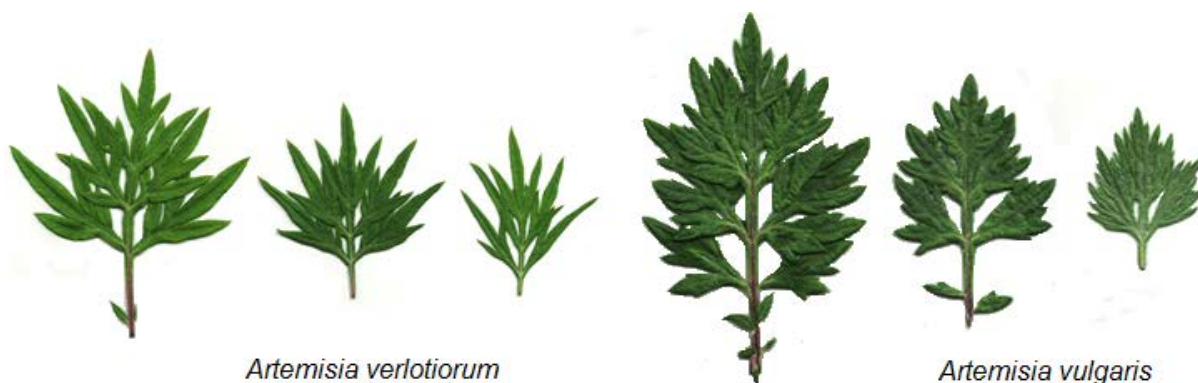
Ce chapitre a donc naturellement cherché à comprendre l'origine de la teneur en 1,8-cinéole de ces vins.

## 2. ORIGINE ENVIRONNEMENTALE DU 1,8-CINEOLE LIEE A LA PRÉSENCE D'UNE ESPÈCE D'ARMOISE AU VIGNOBLE : *ARTEMISIA VERLOTIORUM*

### 2.1. Description des deux espèces d'armoises présentes au vignoble : *Artemisia verlotiorum* et *Artemisia vulgaris*

Nos observations agronomiques sur la propriété viticole dont sont issus les vins de Pauillac contenant des teneurs importantes en 1,8-cinéole (PT09, PT10 et PT14) ont révélé la présence d'une espèce d'armoise dans plusieurs parcelles de vigne. Cette espèce a pu être authentifiée avec l'aide du Dr. Alain Badoc (Axe Molécules d'Intérêt Biologique, EA Œnologie) comme l'armoise des frères Verlot, armoise de Chine ou *Artemisia verlotiorum*.

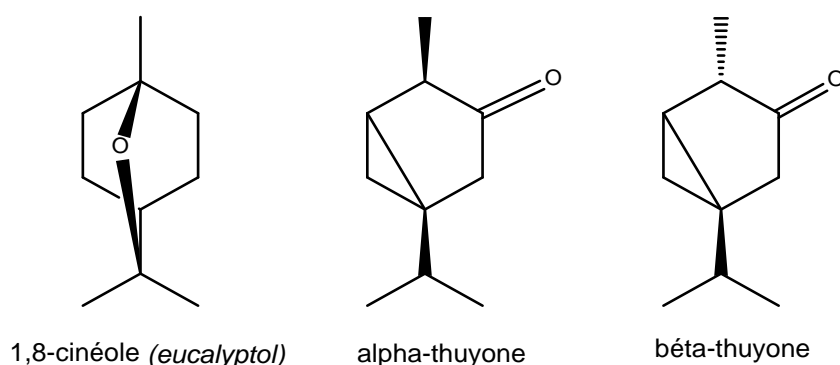
Cette plante originaire d'Asie est répertoriée comme une plante invasive dans la majorité des pays européens, incluant la France (Code de conduite plantes envahissantes, 2016), mais aussi la Suisse (Inflorea *et al.*, 2016), l'Allemagne (Nehring *et al.*, 2013), l'Italie (Celesti-Grapow *et al.*, 2010) ou les états des Balkans (OEPP, 2016). Elle peut aisément être confondue avec une autre espèce d'armoise rencontrée aussi dans les vignobles à savoir l'armoise commune ou *Artemisia vulgaris*. Ces deux espèces diffèrent cependant par la forme de leurs feuilles, plus dentelées pour *A. vulgaris* (**Figure 89**), mais aussi par leur période de floraison respective : Juillet-Septembre pour *A. vulgaris* ; Septembre-Octobre pour *A. verlotiorum*.



**Figure 89.** Feuilles d'*Artemisia verlotiorum* (vignoble de Pauillac) et d'*Artemisia vulgaris* (vignoble de Cognac) à différents stades de croissance.

Une autre différence essentielle tient à l'odeur dégagée par le froissement de leurs feuilles ; *A. verlotiorum* dégageant une forte odeur herbacée et mentholée, à l'inverse d'*A. vulgaris* qui reste peu odorante. L'analyse par SPME-CPG-SM de macérations de feuilles de ces deux espèces de plantes, l'une collectée dans le vignoble de Pauillac, l'autre dans le vignoble charentais, a révélé des différences quant à leur composition en composés volatils.

Cette analyse a montré que les constituants majoritaires d'*A. verlotiorum* sont des composés terpéniques : le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -thuyone et la  $\beta$ -thuyone (**Figure 90**)



**Figure 90.** Structure chimique du 1,8-cinéole,  $\alpha$ -thuyone et  $\beta$ -thuyone.

La quantification de ces composés confirme les teneurs importantes (345,2 mg/kg) dans les feuilles d'*A. verlotiorum*, en comparaison de celles d'*A. vulgaris* (**Tableau 52**). La présence de 1,8-cinéole à des concentrations importantes dans *A. verlotiorum* est en accord avec un certain nombre d'études qui le mentionne comme un composant majoritaire d'autres espèces d'armoises (Rather *et al.*, 2014 ; Perez-Alonso *et al.*, 2003). Bien que les teneurs soient plus faibles dans *A. vulgaris*, sa présence rejoint aussi un certain nombre d'études qui en font mention dans cette espèce (Jerkovic *et al.*, 2003 ; Barney *et al.*, 2005 ; Govindaraj *et al.*, 2008).

**Tableau 52.** Concentration (mg/kg de matière fraîche) en 1,8-cinéole,  $\alpha$ -thuyone et  $\beta$ -thuyone (moyenne  $\pm$  écart type ; n=2) dans les feuilles d'*Artemisia verlotiorum* (vignoble de Pauillac) et d'*Artemisia vulgaris* (vignoble de Cognac).

|                       | 1,8-cineole      | $\alpha$ -thuyone | $\beta$ -thuyone |
|-----------------------|------------------|-------------------|------------------|
| <i>A. verlotiorum</i> | 345,2 $\pm$ 9,01 | 586,7 $\pm$ 26,0  | 175,5 $\pm$ 9,6  |
| <i>A. vulgaris</i>    | 1,06 $\pm$ 0,02  | 10,1 $\pm$ 1,4    | 156,3 $\pm$ 11,4 |

\* Les concentrations en  $\beta$ -thuyone sont exprimés en équivalents de  $\alpha$ -thuyone

Les autres constituants d'*A. verlotiorum*, dont l'abondance est exprimée en % de l'aire totale du chromatogramme, sont essentiellement des sesquiterpènes tels le  $\beta$ -caryophyllène (21,5 %),  $\beta$ -farnesène (2,9 %),  $\alpha$ -caryophyllène (4,9 %),  $\tau$ -muurolène (2,7 %) et le  $\delta$ -cadinène (7,1 %). Notons que ces valeurs sont de 3,9 % pour le 1,8-cinéole, 14,3 % pour l' $\alpha$ -thuyone et 3,7 % pour la  $\beta$ -thuyone.

Aussi, l'analyse d'*A. vulgaris* issue du vignoble de Cognac révèle une composition différente, contenant principalement du camphène (1,5 %), du  $\beta$ -pinène (3,7 %), du limonène (6,6 %), du p-cymène (6,3 %) et du camphor (3,1 %). Cette espèce présente également des concentrations moindres en sesquiterpènes par rapport à *A. verlotiorum*.

Enfin, on ajoutera que, au sein d'une même espèce (*A. vulgaris* par exemple), il peut y avoir une variation importante de composition des composés volatils qui s'explique, pour une part, par le chemotype individuel et, pour une autre part, par certaines conditions environnementales telles les conditions d'humidité de la région (Zhigzhitzhapova *et al.*, 2016).

## **2.2. Authentification de la contamination par le dosage de l' $\alpha$ -thuyone dans les vins.**

Afin de pouvoir confirmer notre hypothèse concernant la mise en évidence de concentrations élevées proportionnellement en 1,8-cinéole dans les vins de Pauillac, dont l'espèce *A. verlotiorum* est présente de manière envahissante dans le vignoble de la propriété, une quantification de son deuxième constituant majoritaire, l' $\alpha$ -thuyone, a donc été réalisée dans les vins (**Tableau 53**).

Ces analyses révèlent la présence de  $\alpha$ -thuyone dans les trois vins de Pauillac, dont l'origine exogène en 1,8-cinéole était suspectée, et ceux, sur les millésimes 2009, 2010 et 2014 (PT09, PT10 et PT14). Nous noterons que les concentrations retrouvées restent très largement inférieures aux teneurs maximales imposées par la réglementation européenne (CE N° 1334/2008) : 35 mg/L pour les boissons alcooliques préparées à partir d'espèces d'armoises comme l'absinthe, 10 mg/L dans les boissons alcooliques obtenus en l'absence de celles-ci.

**Tableau 53. Concentration en 1,8-cinéole (moyenne  $\pm$  écart-type en  $\mu\text{g/L}$ ) et  $\alpha$ -thuyone (moyenne  $\pm$  écart-type en  $\mu\text{g/L}$ ) dans les vins commerciaux ou expérimentaux.**

| Région    | Appellation                    | Millésime | Variété                | 1,8-cineole     | $\alpha$ -thuyone | Code   |
|-----------|--------------------------------|-----------|------------------------|-----------------|-------------------|--------|
| Bordeaux  | Pessac-Leognan                 | 2007      | CS, (M)                | 0,62 $\pm$ 0,01 | < LOD             | CR07   |
| Bordeaux  | Pauillac ( <i>cru classé</i> ) | 2005      | CS, (M)                | 0,85 $\pm$ 0,08 | < LOD             | PL05   |
| Bordeaux  | Pauillac                       | 2014      | CS, (M)                | 1,04 $\pm$ 0,09 | 1,43 $\pm$ 0,08   | PT14   |
| Bordeaux  | Pauillac                       | 2009      | CS, (M)                | 2,24 $\pm$ 0,11 | 2,62 $\pm$ 0,12   | PT09   |
| Bordeaux  | Pauillac                       | 2010      | CS, (M)                | 2,38 $\pm$ 0,01 | 2,76 $\pm$ 0,09   | PT10   |
| Corse     | Corse                          | 2014      | N, Sc                  | 1,86 $\pm$ 0,03 | < LOD             | COR14  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 0,86 $\pm$ 0,05 | < LOD             | IRI75  |
| Sud-ouest | Fronton                        | 2014      | N, (CF, CS, G, Sy, FS) | 1,02 $\pm$ 0,01 | < LOD             | FRT14  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 1,74 $\pm$ 0,05 | < LOD             | IRI82  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 1,82 $\pm$ 0,11 | < LOD             | MTX123 |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 2,45 $\pm$ 0,18 | < LOD             | MTX97  |
| Sud-ouest | Marcillac                      | 2011      | FS                     | 2,60 $\pm$ 0,13 | < LOD             | MAR11  |
| Sud-ouest | -                              | 2014      | FS                     | 2,61 $\pm$ 0,03 | < LOD             | IRI39  |
| Chile     | Chile                          | 2013      | CS                     | 2,74 $\pm$ 0,06 | < LOD             | CHI13  |
| Australia | Margaret River                 | 2011      | CS                     | 2,79 $\pm$ 0,02 | < LOD             | CAP11  |

\* CS, Cabernet Sauvignon ; M, Merlot ; CF, Cabernet franc ; FS, Fer Servadou ; N, Négrette ; G, Gamay ; Sy, Syrah ; N, Nielluccio ; Sc, Sciacarello. LOQ, limite de quantification. Les variétés entre parenthèses sont minoritaires dans l'assemblage.

Ceci constitue donc une démonstration de l'origine exogène du 1,8-cinéole dans ces vins dont les teneurs, anormalement élevées, s'expliquent par la présence d'*A. verlotiorum* au vignoble. De plus, le retrait mécanique des plantes, réalisées par le viticulteur au cours du millésime 2014, engendre un effet direct sur la réduction de la teneur en  $\alpha$ -thuyone et en 1,8-cinéole dans ces vins ; cet élément confortant ainsi notre démonstration.

S'agissant de la contamination, elle pourrait être due à l'incorporation des plantes lors de la vendange mécanique. Toutefois, à l'inverse de l'espèce *A. vulgaris* dont la croissance est plus importante, les plants d'*A. verlotiorum* atteignent à peine la zone des grappes à maturité. De plus, aucun des principaux sesquiterpènes de cette plante n'a pu être détecté dans les vins. La possibilité que ces derniers soient dégradés par la fermentation alcoolique n'est pas à exclure, et cette observation ne peut constituer une démonstration suffisante. Malgré tout, l'hypothèse d'un transfert aérien du 1,8-cinéole (et de l' $\alpha$ -thuyone) est privilégiée ; ce composé

serait donc retenu par un effet d'adsorption sur la cuticule du raisin, comme cela a été suggéré avec les essences d'eucalyptus dans les vignobles californiens (Hervé *et al.*, 2003), puis démontré dans les vignobles australiens (Capone *et al.*, 2012). De même, la libération de composés organiques volatils (VOCs) est un phénomène connu des plantes, que nous développerons au chapitre suivant. Par exemple, il a été démontré qu'une espèce d'armoise (*Artemisia tridentata*) était capable, lorsqu'elle était coupée, d'induire une résistance sur les plants de tabacs voisins par une libération d'un certain nombre de composés volatils dans l'air, dont le 1,8-cinéole (Karban *et al.*, 2000).

Enfin, aucun des autres vins, pour lesquels des concentrations proportionnellement importantes en 1,8-cinéole ont été révélées au cours du **chapitre 5**, ne possède des teneurs en  $\alpha$ -thuyone supérieures à la limite de détection. En même temps que ces résultats excluent la possibilité d'une contamination exogène dans ces vins, ils confortent donc l'origine variétale du 1,8-cinéole, en lien avec le cépage (tel le Fer Servadou) ou le niveau de maturité des raisins.

### 3. CONCLUSION

Ce chapitre a donc permis de révéler une autre origine possible du 1,8-cinéole dans les vins, exogène et associée à une plante envahissante de l'environnement viticole : *Artemisia verlotiorum*.

À l'instar des eucalyptus qui peuvent être une source de 1,8-cinéole dans les vins rouges provenant de régions où ils sont présents à proximité des vignobles, comme la Californie (Hervé *et al.*, 2003) ou plus généralement l'Australie (Capone *et al.*, 2011 ; 2012), cette espèce d'armoise peut donc aussi être à l'origine de teneurs importantes en 1,8-cinéole dans d'autres vignobles, notamment européens. Ces résultats suggèrent alors que les plantes de l'environnement du vignoble, autres que les arbres d'eucalyptus, peuvent avoir une influence directe sur l'arôme du vin ; ceci dépendant de l'espèce de la plante, mais aussi de son chémotype et des conditions environnementales. C'est aussi, à notre connaissance, la première mise en évidence d'arômes exogènes issue d'une plante de l'environnement viticole dans les vins français.

Finalement, cette démonstration ouvre un champ plus large de discussion quant à l'influence de la flore environnante sur l'expression aromatique des vins. Par exemple, les descripteurs aromatiques « herbes de Provence », souvent associés aux vins rouges provenant du sud de la France, pourraient trouver leur origine dans les plantes méditerranéennes environnantes (thym, romarin, sarriette, fenouil, etc.). Ceci constitue alors une perspective de recherche intéressante quant aux odeurs typiques de ces vins en ouvrant, ainsi, une nouvelle dimension au concept de *terroir* qui intégrerait les plantes caractéristiques du lieu. Nos travaux rejoignent la conception élargie du *terroir* telle qu'elle est suggérée par Herderich (2015), intégrant une approche holistique associée à l'impact de l'environnement du vignoble plutôt qu'une approche réductionniste, afin de mieux comprendre son rôle dans la production de vins distinctifs.

# **Chapitre 13. Le salicylate de méthyle, comme contributeur de nuances aromatiques végétales, en réaction de défense de la plante aux pathogènes**

## **1. INTRODUCTION**

Dans le **chapitre 4**, nous avons pu démontrer la présence du salicylate de méthyle (MeSA) au cours de l'analyse d'extraits de vins de Cabernet Sauvignon. Par CPG-olfactométrie, une zone odorante végétale décrite comme « camphrée, médicinale, herbacée, fraîche » a été mise en évidence puis l'identification du composé a été établie par MDGC-MS-O. L'odeur caractéristique du salicylate de méthyle, associée à l'huile essentielle « wintergreen », est celle d'arbustes du genre *Gaultheria* dont il est un constituant majoritaire (98 %) (Khilendra, 2007). Ses propriétés odorantes sont très appréciées dans la culture américaine où il constitue un arôme commun de chewing-gums, bonbons ou produits dentaires. À l'instar de l'acide salicylique dont il dérive, on lui reconnaît des propriétés analgésiques et antipyrétiques ; il peut toutefois devenir létal à forte dose : 101 mg/kg pour un adulte (Safety data for methyl salicylate). Le salicylate de méthyle est un composé largement répandu dans les végétaux, Buttery *et al.* (1969) le présentent, au même titre que l'IBMP, comme l'un des constituants majeurs du poivron. Ces mêmes auteurs suggèrent aussi sa contribution à l'arôme de la tomate (Buttery *et al.*, 1971). Plus récemment, son implication dans les phénomènes de défense des plantes à des insectes herbivores a été mise en lumière. Il fait notamment partie des composés volatils libérés par un certain nombre de plantes (haricots, houblon, tomate, concombre, piment, etc.), sous l'action d'herbivores, mais aussi par la vigne dont les feuilles sont infestées par les tétranyques ou « araignées rouges » (Van Den Boom *et al.*, 2004). Dans ce cas précis, le 3(*E*)-4,8-diméthyl-1,3,7-nonatriène ou des sesquiterpènes tels que le  $\beta$ -caryophyllène, l' $\alpha$ -humulène sont aussi produits par la vigne. En effet, en retour à l'attaque d'un herbivore, les plantes mettent en œuvre des réactions de défense directes ou indirectes (Kessler & Baldwin, 2002).

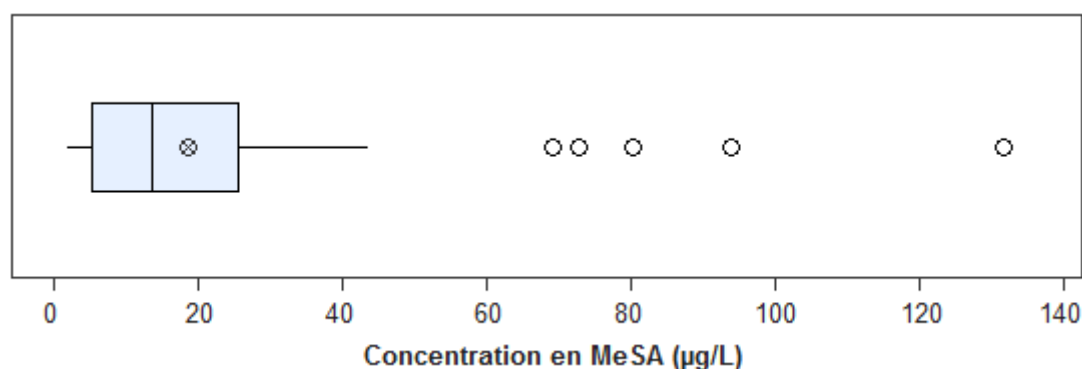


Les réactions qualifiées de directes comprennent la production et le stockage de métabolites pouvant affecter les performances des herbivores (Wittstock & Gershenzon, 2002). Dans cet esprit, une étude récente (Kim *et al.*, 2016) montre les propriétés insectides du salicylate de méthyle vis-à-vis du moucheron asiatique (*Drosophila suzukii*). Les réactions indirectes conduisent, quant à elles, à la libération par les plantes de métabolites attirant les prédateurs naturels de l'herbivore ; libération qui dépend de l'identité de celui-ci (Moreira *et al.*, 2016). James & Price (2004) ont ainsi démontré que le salicylate de méthyle permettait d'attirer plusieurs espèces d'insectes de prédateurs tels *Chrysopa nigricornis*, *Hemerobius sp.*, *Deraeocoris brevis*, *Stethorus punctum* conduisant à réduire de manière significative les attaques d'araignées rouges vis-à-vis du houblon. Des effets similaires du salicylate de méthyle ont été observés en lien avec l'attraction d'ennemis naturels des pucerons sur le soja (Mallinger *et al.*, 2011), telles les coccinelles à sept points ou *Coccinella septempunctata* (Zhu *et al.*, 2005) source d'IPMP dans les vins (**Etude bibliographique, § 1.3.1**). Par ailleurs, il a été établi que le salicylate de méthyle synthétisé par les plants de tabac infectés par le virus de la mosaïque à partir de l'acide salicylique permet l'acquisition de leur résistance. Sa libération dans l'air constitue un signal de défense aérien activant la résistance des plants de tabac voisins (Shulaev *et al.*, 1997). La controverse quant à l'existence de cette « communication » entre les plantes a été levée récemment par Karban *et al.*, (2014) en intégrant les résultats de 48 études sur le sujet. Heil & Kaban (2010) résument cette « communication » en rappelant qu'elle peut aussi être induite par la libération de composés volatils organiques (VOC) d'un plan voisin sous l'action de coupure mécanique, d'infection virale ou de pathogène. Elle peut aussi être interspécifique, c'est par exemple le cas d'une espèce d'armoise coupée (*Artemisia tridentata*) qui est capable, par la libération de composés volatils (**chapitre 12**), d'induire une résistance aux sauterelles et aux noctuelles sur les plants de tabac voisin (Karbon *et al.*, 2000). Park *et al.*, (2007) rappelle toutefois que le salicylate de méthyle occupe un rôle central dans l'induction d'une résistance systémique acquise (SAR) dans le tabac.

Bien que la présence du salicylate de méthyle ait été attestée dans les vins par analyse chromatographique intégrale (GCxGC) (Robinson *et al.*, 2011b ; Bordiga *et al.*, 2013) et plus récemment dans les pétioles de raisin (Ward *et al.*, 2015), il n'existe pas, à notre connaissance, de travaux de caractérisation de l'impact de ce composé dans le vin. Ainsi, ce chapitre vise à caractériser l'impact du salicylate de méthyle dans les vins et les paramètres de sa genèse.

## 2. PREMIÈRE APPROCHE QUANTITATIVE DU SALICYLATE DE MÉTHYLE DANS LES VINS ROUGES

Le salicylate de méthyle a été quantifié (*méthode 2*) dans un échantillonnage de 98 vins rouges, constitués de 52 vins commerciaux provenant de la majorité des régions française, mais aussi de vins expérimentaux qui ont été présentés au cours des différents chapitres (microvinifications de clones de Cabernet franc ou de raisins provenant de différents terroirs). Au sein de cette sélection sont représentés des vins du millésime 2002 à 2014. Une représentation de ces données de quantification a été réalisée sous forme de boîtes à moustaches (Figure 91).



**Figure 91. Distribution du salicylate de méthyle dans l'échantillonnage de vins analysés (n=98).** Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey.

Les résultats montrent que les concentrations en salicylate de méthyle des vins analysés sont majoritairement comprises entre 5 et 25 µg/L, avec environ 15 % des vins entre 30 et 40 µg/L. La moyenne des concentrations des 98 vins est de 18,7 µg/L, la médiane de 13,6 µg/L. Toutefois, des teneurs proportionnellement élevées ont pu être observées dans certains vins (n=5) dans une gamme de concentrations s'échelonnant entre 69,2 et 131,8 µg/L. Ces 5 vins correspondent à 3 vins commerciaux du millésime 2014 (Côtes-du-rhône, cépage Syrah ; Bordeaux rouge) et à deux vins expérimentaux de terroir sur le millésime 2006 (Graves et Sables).

L'analyse de son analogue structural à l'odeur similaire, le salicylate d'éthyle, a révélé sa présence dans les vins rouges, mais avec des niveaux de concentration nettement inférieurs : gamme de concentrations de 0,3 à 9,8 µg/L ; moyenne des teneurs à 0,91 µg/L.

### 3. IMPACT SENSORIEL DU SALICYLATE DE MÉTHYLE

Le seuil de détection olfactive du salicylate de méthyle a été déterminé par le *panel 19* à partir d'une gamme de concentrations situées entre 11,8 ; 17,7 ; 26,6 ; 40 ; 60 ; 90 ; 135 et 202,5 µg/L en solution modèle [L(+)-acide tartrique 5 g/L, 12 % vol, pH 3,5] d'une part et dans un vin rouge de Bordeaux à l'expression aromatique neutre d'autre part.

L'estimation de la valeur par la méthode BET a révélé un seuil de détection olfactive de **46,8 µg/L** en solution modèle et **63,2 µg/L** dans le vin rouge. Pour chacune des modalités, le seuil de détection individuel minimal était de 9,6 µg/L. L'observation des graphiques représentant le nombre de personnes en fonction de la concentration minimale perçue dans le milieu modèle (**Figure 92**) montre une répartition de type gaussienne, validant ainsi la plage de concentration sur laquelle a reposé la détermination du seuil de détection. En revanche, dans le vin rouge, ce même graphique se décompose en deux groupes distinctifs. Le premier suit une distribution normale centrée autour d'une valeur proche de celle déterminée en solution modèle, le second (10 personnes) se positionne autour des valeurs hautes de concentration.

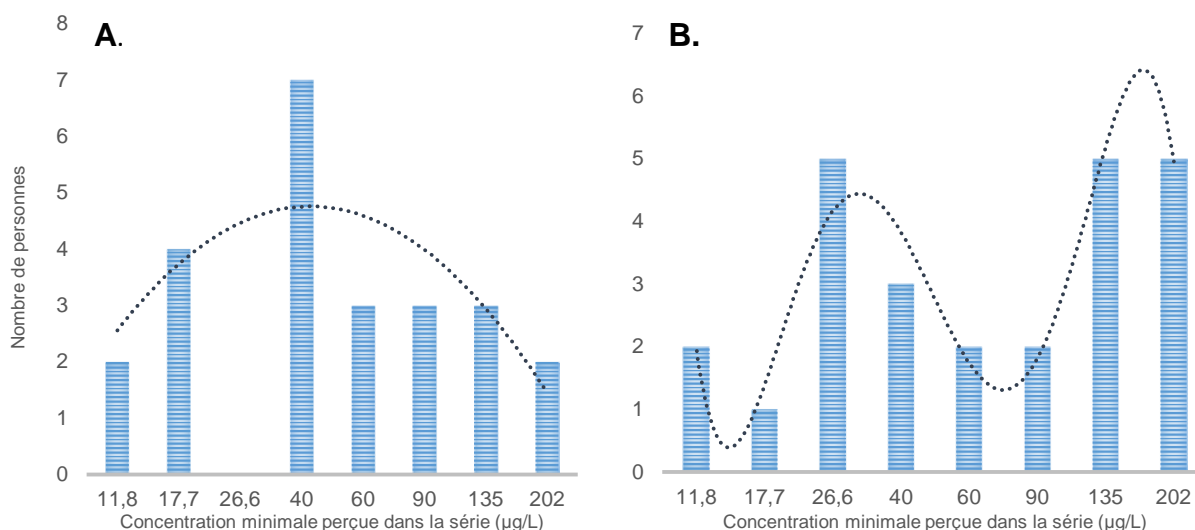
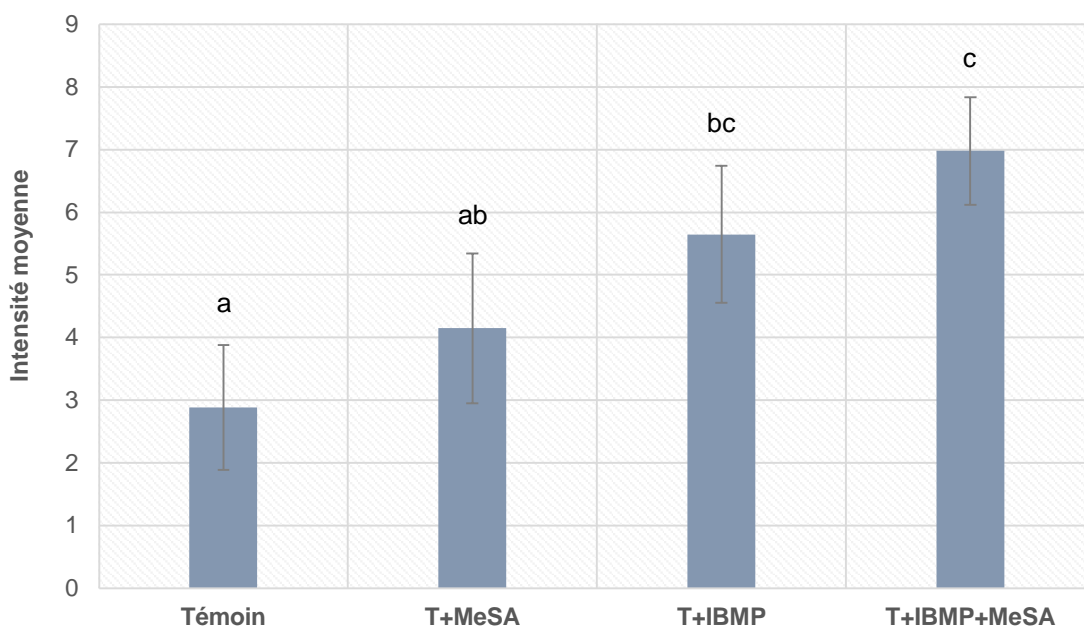


Figure 92. Nombre de personnes en fonction de la concentration minimale perçue en solution modèle (A), dans un vin rouge de Bordeaux (B).

Au final, les valeurs de seuil de détection olfactive indiquent donc que le salicylate de méthyle a une contribution sensorielle à certaines des teneurs mesurées dans les vins rouges, et particulièrement dans les concentrations hautes de l'échantillonnage analysé (69,2-131,8 µg/L).

L'impact du salicylate de méthyle sur le caractère végétal d'un vin rouge de Bordeaux a ensuite été évalué par le *panel 11* à partir d'un échantillon supplémenté à 70 µg/L, cette valeur correspondant aux teneurs basses des vins de l'échantillonnage dont les concentrations se démarquent des autres (**Figure 91**). La considération de phénomènes d'interactions perceptives a été appréhendée avec l'ajout complémentaire dans le même vin de 25 ng/L d'IBMP à une concentration de 20 ng/L (**Figure 93**).



**Figure 93. Intensité moyenne du descripteur « végétal ». MeSA : salicylate de méthyle.** La barre d'erreur indique l'intervalle de confiance à 95 %. Les lettres indiquent les groupes statistiques obtenus par ANOVA ( $p$ -valeur < 0,05) ; teneur initiale en MeSA : 9,8 µg/L.

L'ajout de 70 µg/L de salicylate de méthyle dans les vins rouges engendre une tendance dans l'accroissement de la perception de nuances végétales. Cette modalité (T+MeSA) se positionne de manière intermédiaire entre le témoin et le témoin supplémenté par 25 ng/L d'IBMP ; de même, lorsque le salicylate de méthyle est supplémenté en complément de l'IBMP (25 ng/L), une tendance à l'augmentation des nuances végétales est observée.

Afin de caractériser d'un point de vue qualitatif les changements d'odeurs apportés par chacun des composés, mais aussi l'odeur du mélange, une génération libre de vocabulaire a été réalisée par le *panel 20* sur une solution modèle supplémentée par 200 µg/L de salicylate de méthyle et 25 ng/L d'IBMP (**Figure 54**). Les termes n'ayant été cités qu'une seule fois n'ont pas été considérés.

**Tableau 54. Principaux descripteurs générés par l'évaluation d'une solution modèle supplémentée par 200 µg/L de salicylate de méthyle (MeSA) ou 25 ng/L d'IBMP.**

| MeSA  | IBMP                    | MeSA + IBMP                                 |
|---|-------------------------|---|
| frais (6)                                   | poivron (12)            | poivron (9)                                 |
| chimique / dentiste /<br>pharmaceutique (7) | végétal (11)            | herbacé (7)                                 |
| florale (3)                                 | herbacé (4)             | chimique / dentiste /<br>pharmaceutique (5) |
| végétal (4)                                 | IBMP (3)                | florale (4)                                 |
| solvant (3)                                 | terreux / poussière (3) | végétal (6)                                 |
| fruits rouge (3)                            | légume vert (2)         | mentholé / camphré (6)                      |
| mentholé / camphré (3)                      | mentholé / camphré (2)  | mélange des deux (2)                        |
| bergamote / agrume (4)                      |                         | fruits rouge (2)                            |
| fruité (2)                                  |                         | IBMP (1)                                    |
|   |                         | légume vert, feuille de tomate (2)          |

\* Les valeurs entre parenthèses indiquent le nombre de citations.

En accord avec ses propriétés odorantes, la solution contenant du salicylate de méthyle renvoie à des nuances de végétal frais de type « pharmaceutique, médicinal », « mentholé » et « camphré », avec une nuance florale ou un caractère fruité qui peut être assimilé aux agrumes. Les tonalités végétales de la solution supplémentée en IBMP sont différentes : moins fraîches, plus herbacées, et évocatrices du poivron. De plus, l'évaluation sensorielle du mélange montre qu'il est de nature hétérogène, sans formation de nouvelle odeur particulière. Chez certains dégustateurs, cette perception analytique se traduit même par ce type d'expression : « mélange des deux verres précédents ». L'expérience similaire, réalisée dans le vin rouge, conduit aux mêmes conclusions (**Figure 55**). Malgré l'interaction possible avec les autres composés du vin, ces deux molécules odorantes sont à l'origine de tonalités similaires à celles observées en solution modèle, qu'elles soient ajoutées seules ou en mélange.

**Tableau 55.** Principaux descripteurs générés par l'évaluation d'un vin rouge de Bordeaux supplémentée par 200 µg/L de salicylate de méthyle (MeSA) ou 25 ng/L d'IBMP.

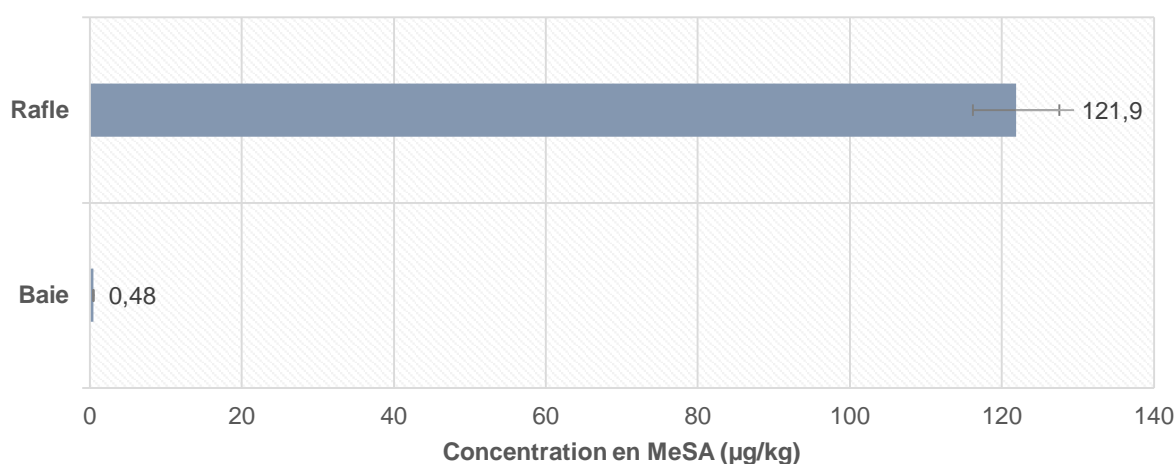
| <b>Témoin</b>      | <b>MeSA</b>   | <b>IBMP</b>                             | <b>MeSA + IBMP</b>                                  |
|--------------------|---|---|---|
| "témoin" (5)       | <b>frais (7)</b>                                    | <b>poivron (12)</b>                     | <b>poivron (9)</b>                                  |
| fruité (5)         | fruit <b>frais (3)</b>                              | <b>végétal (9)</b>                      | <b>végétal (7)</b>                                  |
| fruits rouges (4)  | fruité (3)  | <b>herbacée (3)</b>                     | <b>herbacé (6)</b>                                  |
| <b>frais (4)</b>   | fruits rouge (3)                                    | fumé / grillé (3)                       | fumé / grillé (3)                                   |
| fruits noirs (3)   | <b>végétal (3)</b>                                  | <b>légume vert /<br/>cosse pois (2)</b> | <b>mélange des deux (3)</b>                         |
| <b>herbacé (3)</b> | <b>chimique / dentiste /<br/>pharmaceutique (3)</b> | lourd (2)                               | <b>chimique / dentiste /<br/>pharmaceutique (2)</b> |
| <b>végétal (3)</b> | <b>mentholé / camphré (3)</b>                       | <b>IBMP (2)</b>                         | <b>IBMP (2)</b>                                     |
|                    | <b>épicé (2)</b>                                    | <b>frais (2)</b>                        | <b>épicé (2)</b>                                    |
|                    | <b>floral (2)</b>                                   | fruit rouge (2)                         | <b>frais (2)</b>                                    |
|                    |   |   | fruit rouge (2)                                     |
|                    |   |   | <b>mentholé / camphré (2)</b>                       |

\* Les valeurs entre parenthèses indiquent le nombre de citations.

## 4. LOCALISATION DU SALICYLATE DE MÉTHYLE DANS LE RAISIN ET CINÉTIQUE D'EXTRACTION AU COURS DE LA VINIFICATION

La répartition du salicylate de méthyle dans les différentes parties du raisin a été analysée selon la même procédure que celle développée pour le 1,8-cinéole (**chapitre 6**). Les résultats montrent que le salicylate de méthyle est principalement localisé dans la rafle du raisin (**Figure 94**) : la différence de concentration entre la rafle et la baie (exprimée en µg/kg de matière fraîche) étant environ d'un facteur 250.

Cette observation rejoint les travaux de Ward *et al.*, (2015) qui ont montré une augmentation des concentrations en salicylate de méthyle et d'éthyle, en même temps que celles de plusieurs terpènes, avec l'incorporation croissante de pétioles dans le moût.



**Figure 94.** Concentration (µg/kg de matière fraîche) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les rafles et dans les baies de Cabernet Sauvignon (millésime 2014).

Comme pour le 1,8-cinéole, l'éraflage apparaît, dès lors, comme un facteur significatif de la modulation des concentrations en salicylate de méthyle dans les vins rouges. En outre, ce paramètre est d'autant plus important que le contenu en salicylate de méthyle dans le raisin le sera également.

A l'inverse du 1,8-cinéole, le salicylate de méthyle est principalement localisé au niveau de la pellicule (68 %) suggérant une extraction progressive au cours de la macération. La cinétique d'extraction du salicylate de méthyle a donc été réalisée en 2015 au cours de la vinification de raisins de Cabernets Sauvignon. Pour cela, une cinétique a été réalisée par des prélèvements à l'encuvage, toutes les 48 h durant la fermentation alcoolique puis par trois échantillonnages lors de la phase de macération post-fermentaire ; le dernier a été réalisé au moment du décuvage. 20 mL sont prélevés, additionnés de 100 mg/L de dioxyde de soufre (6 % v/v ; Laffort, Bordeaux, France) puis congelé à - 20 °C avant d'être analysée (**Figure 95**).

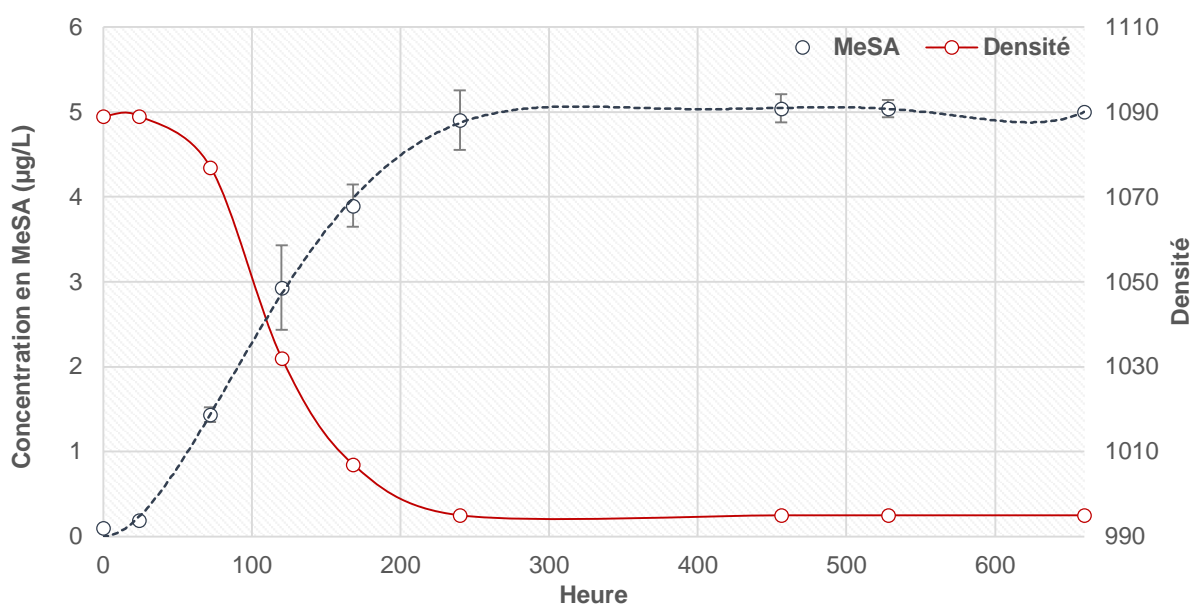


Figure 95. Évolution des concentrations (µg/L) en salicylate de méthyle (MeSA) au cours de la micro vinification des raisins sains de Cabernet Sauvignon (millésime 2015).

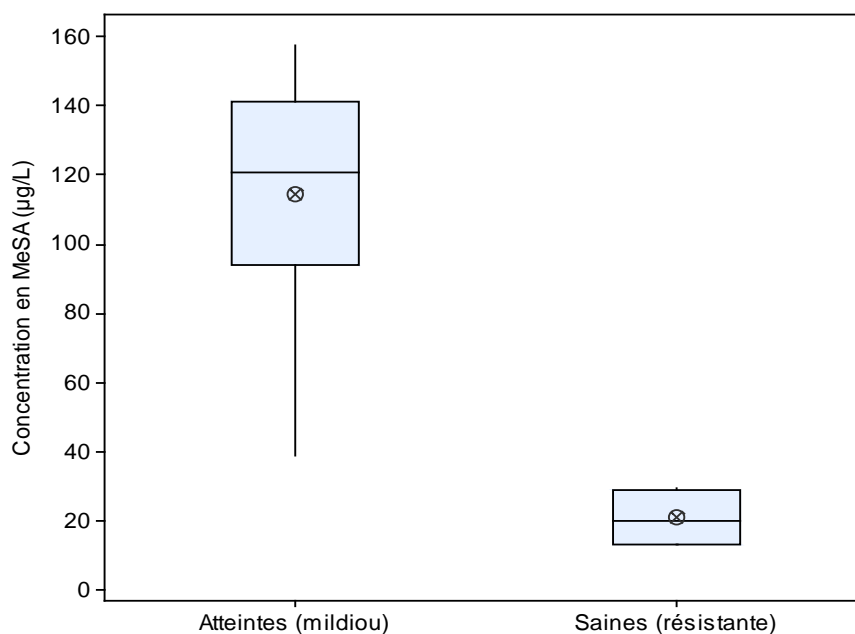
L'analyse des concentrations en salicylate de méthyle dans le moût et le vin montre une augmentation progressive en cours de vinification ce qui confirme la suggestion précédente quant à son évolution. La concentration maximale est atteinte à la fin de la fermentation, soit, dans ce cas précis, au bout d'une dizaine de jours environ. La littérature évoque la présence de formes glycosylées du salicylate de méthyle qui ont été observées ( $\beta$ -D-glucopyranoside et 6-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside) dans les fruits des espèces du genre *Passiflora* (Chassagne *et al.*, 1997). Suivant l'hypothèse de l'existence de ces formes dans le raisin, l'augmentation importante du salicylate de méthyle observée au cours de la fermentation pourrait donc résulter de l'action croisée de phénomène d'extraction et de libération sous l'action d'enzymes (bien que celles-ci soient plus difficiles dans le cas des diglucosides), notamment levuriennes (Bisotto *et al.*, 2015).



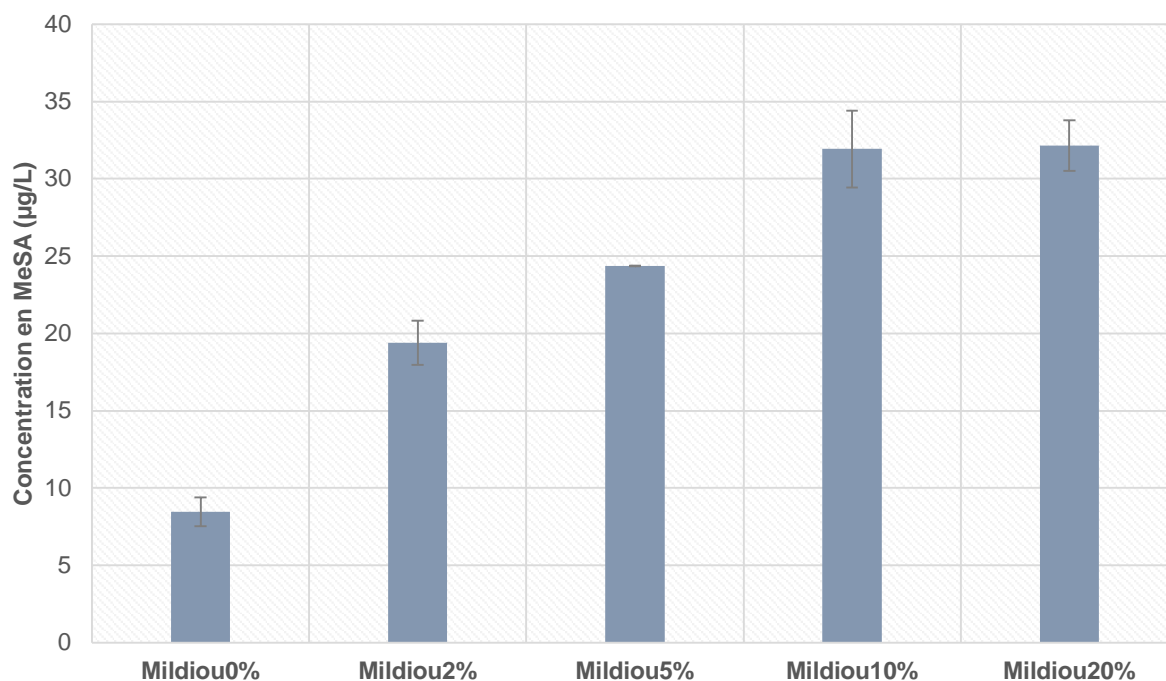
## 5. SALICYLATE DE MÉTHYLE ET NUISIBILITÉ DE MALADIES CRYPTOGRAMIQUES

En considération des origines possibles du salicylate de méthyle énoncées dans l'introduction, l'hypothèse d'une réaction de défense à l'attaque de pathogènes a naturellement été envisagée pour expliquer sa teneur importante dans certains vins. Ainsi, des vins expérimentaux de Merlot provenant de 6 blocs parcellaires de jeunes vignes (plantation en 2011) conduites selon des modes de cultures conventionnels et biologiques (Laurent Delière ; UMR 1065, Santé et agro écologie du Vignoble ; dispositif « ResIntBio ») et ayant subi des attaques de mildiou à différentes proportions ont été analysées en comparaison de vins provenant de 3 blocs de parcelle de variété résistante (INRA) à ce champignon (**Figure 96**). Les estimations visuelles ont permis de situer le niveau d'atteinte des raisins dans les parcelles de vigne : de 2,2 à 59,3 %. Naturellement, les vignes résistantes ne possédaient aucune atteinte observable de mildiou. Ainsi, 14 vins expérimentaux, obtenus à partir de 40 kg de raisins vinifiés dans les mêmes conditions, ont été analysés (millésime 2013 et 2014) : 10 associés à des atteintes de mildiou, 4 à de variétés résistantes.

Cette première approche du lien entre le salicylate de méthyle et les pathogènes a révélé une nette disparité entre les vins expérimentaux provenant de vignes ayant subi des attaques de mildiou et les vins issus de la variété résistante. La valeur médiane des vins dont les vignes ont été touchées par le mildiou se situe à 120,7 µg/L, avec une valeur maximale à 157,9 ± 6,7 µg/L ; correspondant ainsi aux concentrations hautes des 98 vins analysés précédemment. À l'inverse, la plage de concentration des vins issus des variétés résistantes est globalement similaire à celle observée sur l'échantillon des 98 vins. Ces observations vont dans le sens d'une relation entre le pathogène et les concentrations en salicylate de méthyle dans les vins rouges. Ainsi, les niveaux de concentration importants mesurés dans certains vins commerciaux, de l'ordre de ceux observés sur les vignes atteintes par le mildiou, laissent supposer un impact du développement de *Plasmopara viticola*. Toutefois, cette interprétation ne peut être que partielle puisque nous ne pouvons exclure un possible effet de la variété.



**Figure 96.** Distribution des concentrations en salicylate de méthyle dans les vins expérimentaux obtenus à partir de vignes atteintes par le mildiou (n=10) ou de vignes de variétés résistantes (n=4) au cours des millésimes 2014 et 2015. Représentation en boîte à moustaches ou boîte de Tukey.



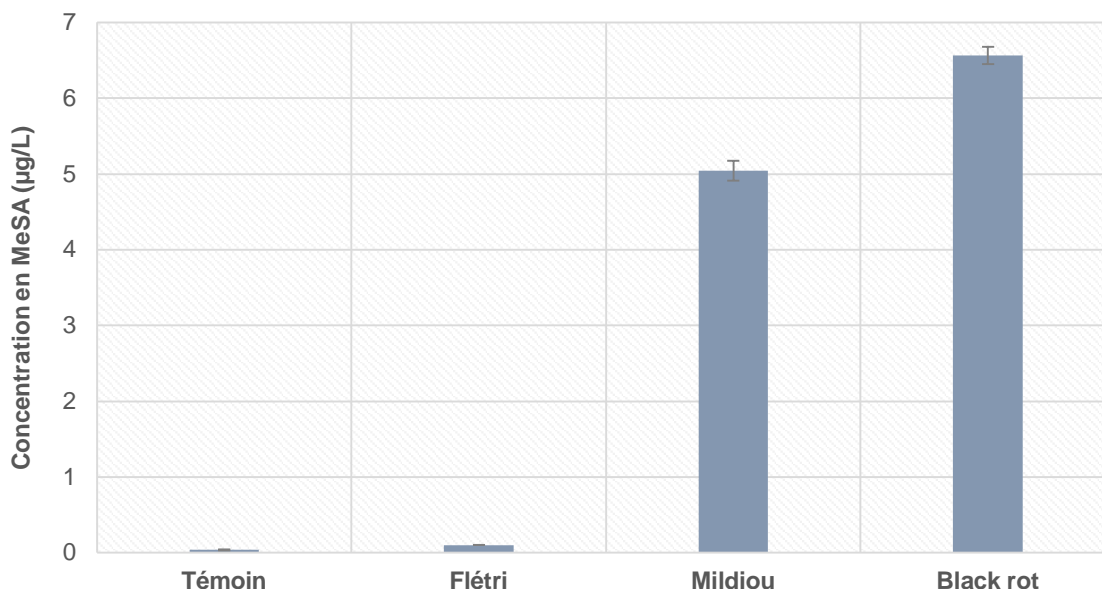
**Figure 97.** Concentration (µg/L) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les vins expérimentaux de Merlot du millésime 2012 obtenus à partir d'ajouts croissants de baies atteintes par le mildiou (faciès « rot brut »).

Aussi, afin de valider l'hypothèse d'une influence réelle du mildiou sur l'augmentation des concentrations en salicylate de méthyle, une expérience complémentaire a été réalisée sur des vins de merlot du millésime 2012 en collaboration avec la chambre d'agriculture (Blanquefort, Gironde). Des baies atteintes par le mildiou (rot-brun) ont été incorporées selon différentes proportions (2, 5, 10 et 20 %) à des raisins sains. Les modalités ont été vinifiées dans des conditions identiques puis les concentrations en salicylate de méthyle ont été mesurées dans chacune d'entre elles (**Figure 97**).

Les résultats d'analyses montrent une nette augmentation de la concentration en salicylate de méthyle liée à l'incorporation accrue de baies atteintes de « rot-brun ». Les baies atteintes par le mildiou sont donc des sources potentielles de salicylate de méthyle dans les vins. Toutefois, leur incorporation à des raisins sains ne suffit pas à atteindre les concentrations importantes préalablement observées puisque les modalités supplémentées avec 10 et 20 % de baies atteintes par le mildiou présentent une concentration en salicylate de méthyle qui n'excède pas 30 µg/L. En fait, bien que l'on puisse considérer la qualité de l'éraflage comme déterminante, il est aussi probable que l'accumulation du salicylate de méthyle, en réaction de défense systémique de la plante, ne se localise pas uniquement au niveau des baies atteintes (rot-brun), mais s'établisse de manière plus générale dans le raisin. Ainsi, selon cette hypothèse, une vigne atteinte par le mildiou verra sa concentration en salicylate de méthyle accrue dans la totalité des baies, même saines, engendrant alors des teneurs importantes, telles que celles que nous avons pu observer.

Afin d'exclure la possibilité d'une augmentation des concentrations en salicylate de méthyle qui serait due, uniquement, à un effet de concentration dans la baie par la modification du rapport peau/pellicule (phénomène de dessèchement sous l'action du mildiou), des expériences complémentaires ont été menées au laboratoire. 20 baies saines, 20 baies flétries naturellement, 20 baies flétries (faciès « rot brun ») sous l'action du mildiou (*Plasmopara viticola*) et 20 baies flétries sous l'action du black rot (*Guignardia bidwellii*) ont alors été introduites dans bouteilles en verres ambrés de 100 mL contenant 60 mL du milieu modèle de moût puis mis à fermenter par ensemencement de la souche de levure FX10® (20g/hL, Laffort Œnologie, Bordeaux). La sélection des baies a été réalisée par la même équipe de l'INRA de Bordeaux (Laurent Delière ; UMR 1065, Santé et agroécologie du Vignoble). Après fermentation, les solutions ont été analysées (**Figure 98**).

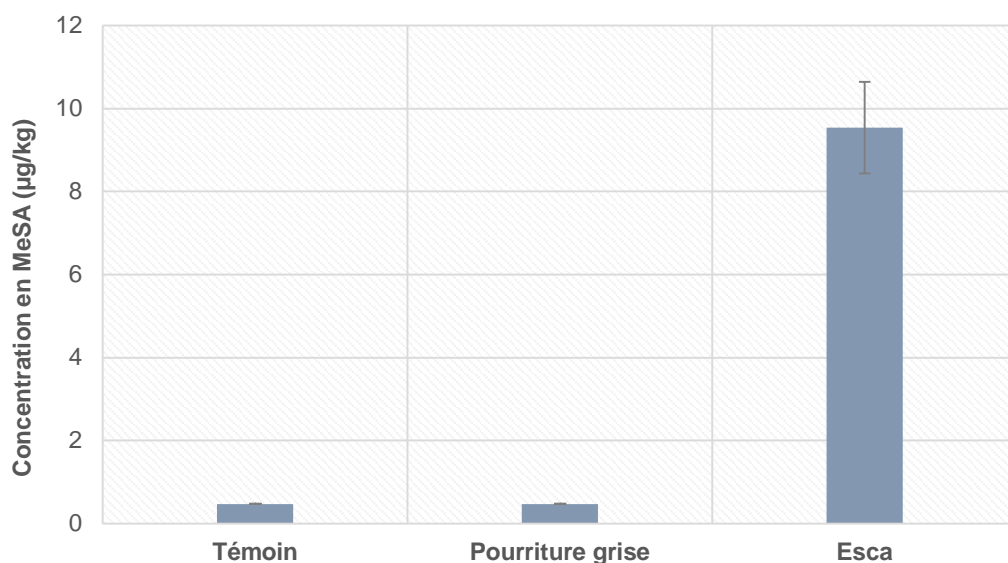
Nous notons que, à l'inverse de baies touchées par le mildiou, les solutions obtenues après fermentation alcoolique et macération des baies de black rot étaient incolores.



**Figure 98.** Concentration (μg/L) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les milieux modèles de fermentation en présence de baies saines (témoin), flétries naturellement, flétries sous l'action du mildiou (faciès « rot brun ») ou flétries sous l'action du black rot.

Un léger effet de concentration en salicylate de méthyle a pu être observé par la modification du rapport pulpe/pellicule dans les baies flétries en comparaison des baies saines (témoin). Toutefois, cette variation de concentrations reste faible, notamment au regard de celle engendrée par l'action des deux pathogènes. Par conséquent, cette expérimentation confirme bien la relation entre les concentrations en salicylate de méthyle et le mildiou, comme cela a récemment été suggéré sur la vigne (Chalal *et al.*, 2015). De plus, elle démontre que d'autres champignons, tels que le black rot, sont aussi capables d'induire des concentrations nettement supérieures de ce composé dans les baies. De plus, la fermentation du milieu modèle en présence de 1 mg/L d'acide salicylique n'induit aucune augmentation particulière sur les concentrations en salicylate de méthyle (résultats non communiqués). Son origine ne peut donc provenir du métabolisme de l'acide salicylique par les levures, possiblement présent en quantité plus importante dans les plants infectés.

Enfin, nous avons aussi cherché à considérer l'action d'autres pathogènes, comme le champignon *Botrytis cinerea*, mais également des **maladies du dépérissement du bois** tel que l'esca. Pour cela, des baies saines, atteintes par la pourriture grise ou provenant de plants touchés par l'esca (symptômes foliaires), ont été récoltées à maturité sur une parcelle de Cabernet-Sauvignon (Haut-médoc) du millésime 2015 puis analysées (**Figure 99**).

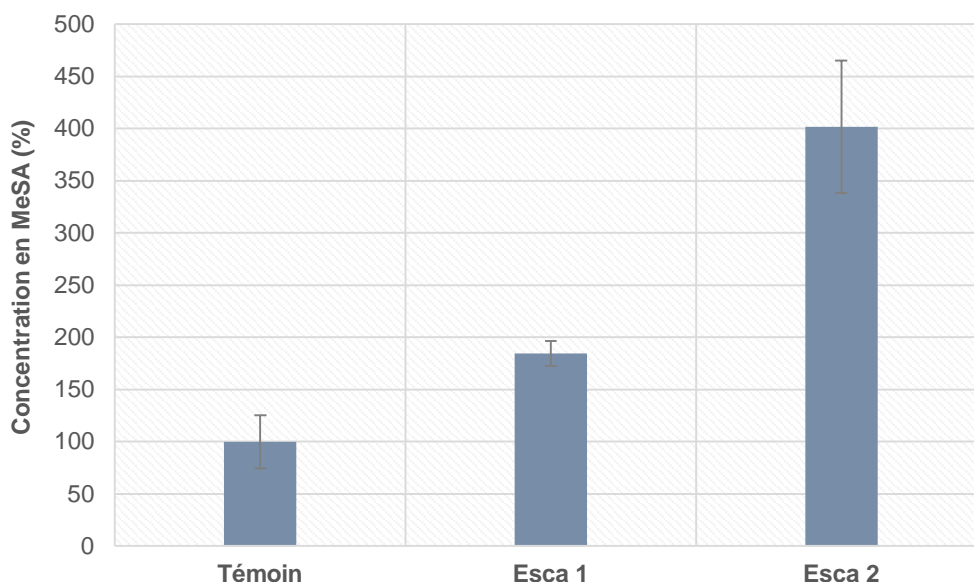


**Figure 99.** Concentration (µg/kg de matière fraîche) en salicylate de méthyle (MeSA) des baies de Cabernet Sauvignon (millésime 2015) : saines (témoin), atteintes par la pourriture grise ou récoltées sur des plants de vigne touchés par l'esca.

Les analyses révèlent qu'à l'inverse du mildiou ou du black rot, la pourriture grise (*B. cinerea*), dont l'attaque s'effectue, à cette période de l'année, exclusivement sur les raisins, n'engendre aucune augmentation des concentrations en salicylate de méthyle. À l'inverse, les raisins prélevés sur des pieds atteints par la maladie de l'esca, raisins dont le faciès apparaît comme sain, conduisent à une augmentation notable (facteur 20) de la concentration en salicylate de méthyle dans les baies. Ainsi, comme nous l'avons suggéré, les concentrations en salicylate de méthyle semblent bien en lien avec une réponse générale de la plante à l'attaque des pathogènes ; elle ne serait donc pas induite par des atteintes cryptogamiques uniquement contenues sur le raisin.

Afin de confirmer ces observations, des raisins ont été vendangés à maturité, au cours du millésime 2016, sur une parcelle de Cabernet-Sauvignon (appellation Côte-de-Bordeaux) âgée de 19 ans et particulièrement touchée par l'esca. Trois modalités constituées par 10 kg de raisins provenant de plants sains, modérément atteints par l'esca, fortement atteints par l'esca, ont été microvinifiées dans des conditions similaires à celles employées au cours du **chapitre 4**. Notons que la sélection a été réalisée sur la base des symptômes foliaires des plants.

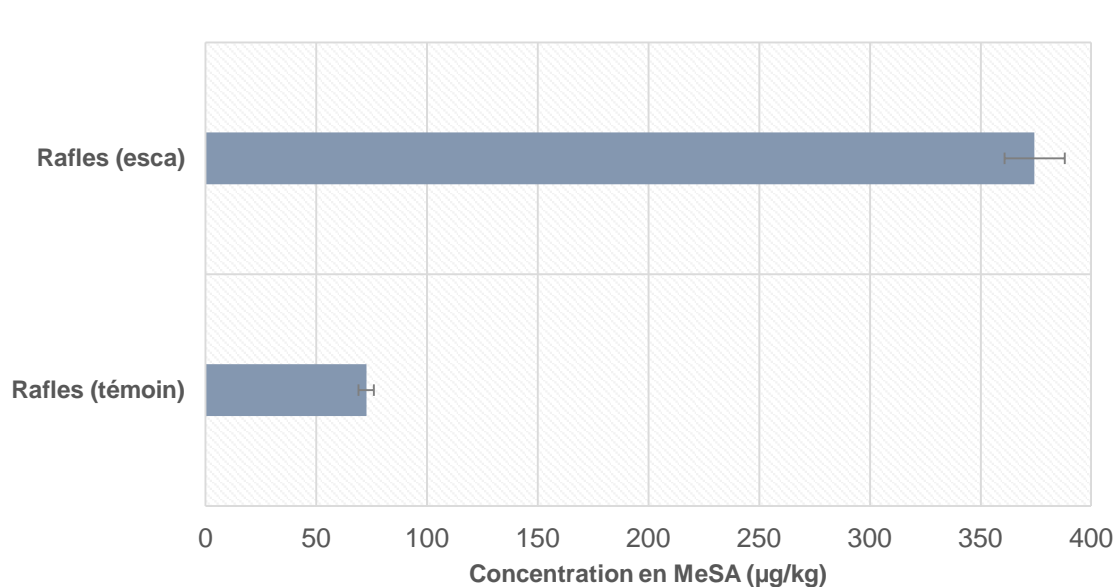
La quantification du salicylate de méthyle a été réalisée en fin de fermentation alcoolique après sulfitage à 50 mg/L des échantillons (**Figure 100**).



**Figure 100.** Concentration en salicylate de méthyle (MeSA), exprimée en % par rapport au témoin, dans les vins expérimentaux (fin de fermentation alcoolique) de raisins provenant de plants sains (témoin), modérément atteints par l'esca (Esca1), fortement atteints par l'esca (Esca2). L'écart-type est celui de l'analyse (n=3).

Les résultats obtenus montrent une nette augmentation des concentrations en salicylate de méthyle dans les vins par l'infection des plants de vigne. Une atteinte modérée par l'esca suffit à augmenter d'un facteur 2 environ (185 %) les concentrations par rapport au témoin ; de même qu'une atteinte sévère engendre une augmentation des concentrations de 400 %. Malgré tout, dans ces modalités, les concentrations restent faibles (< 5 µg/L) au regard du seuil de détection olfactive du composé.

Enfin, l'analyse des rafles de raisins sains et de raisins atteints par l'esca (Cabernet Sauvignon, 2015) souligne ce phénomène d'accumulation du salicylate de méthyle dans les organes de la plante. On note ainsi une augmentation notable de sa concentration dans les rafles de raisins récoltés sur des plants touchés par l'esca (**Figure 101**).



**Figure 101.** Concentration (µg/kg de matière fraîche) en salicylate de méthyle (MeSA) dans les rafles de Cabernet Sauvignon du millésime 2015, récoltées sur des plants de vigne sains (témoin) ou touchés par l'esca.

## 6. CONCLUSION

Ce chapitre a concerné une étude particulière du salicylate de méthyle, préalablement identifié au **chapitre 4**, en considérant notamment son impact sensoriel, ainsi que son origine et ses facteurs de variation.

L'analyse quantitative du salicylate de méthyle a montré qu'il pouvait être présent dans les vins rouges à des niveaux relativement élevés (70 à 150 µg/L) au regard des seuils de perception déterminés en solution modèle (46,8 µg/L) ou dans le vin rouge (63,2 µg/L). À ces concentrations, l'impact sur les nuances aromatiques végétales est notable. Il apporte ainsi des nuances végétales jugées « fraîches » et notées comme « pharmaceutiques », « chimiques », « camphrées » ou « mentholées ».

Un test de préférence pourrait former une perspective intéressante quant à l'acceptation de ces nuances caractéristiques dans les vins auprès de plusieurs segments de consommateur ; les écarts culturels, par exemple entre l'Europe et l'Amérique du Nord, vis-à-vis de l'odeur du salicylate de méthyle, pourraient être à l'origine d'importants écarts dans cette acceptation.

De plus, le lien entre le salicylate de méthyle et plusieurs pathogènes de la vigne (mildiou, black rot ou esca) a pu être démontré dans les raisins et dans les vins au cours de ce chapitre. Il apparaît que la biogenèse de ce composé est induite en réaction de défense de la plante à ces champignons. Considérant les études sur le tabac (Shulaev *et al.*, 1997 ; Park *et al.*, 2007), il est tout à fait probable que le salicylate de méthyle représente même un signal aérien permettant le renforcement des défenses de plants voisins. En plus de sa qualité de marqueur aromatique, ce composé est donc un indicateur de l'état d'infection du vignoble qui représente, selon nous, un outil intéressant pour les viticulteurs. D'un point de vue technologique, nous ne pouvons que conseiller aux vinificateurs qui souhaitent limiter sa teneur dans les vins de veiller à la qualité de l'éraflage, particulièrement lorsque les raisins sont issus de parcelles ayant subi une pression parasitaire ou atteinte par l'esca.

Les résultats obtenus au cours de chapitre constituent donc une démonstration originale de l'influence de la pression parasitaire et de l'état d'infection de la plante sur l'expression aromatique des vins ; et particulièrement sur certaines nuances végétales. Ainsi, la compréhension du lien entre le salicylate de méthyle et d'autres bioagresseurs, tels que l'oïdium ou les insectes herbivores par exemple, forme l'une des perspectives de recherche à notre travail.



## **CONCLUSION GENERALE**

Les travaux développés au cours de cette thèse ont cherché à apporter des éléments de compréhension sur la famille aromatique du « végétal », descripteur largement utilisé par les professionnels du vin. Initialement, l'approche sensorielle développée autour de ce questionnaire a mis en exergue un fort ancrage du descripteur végétal dans le champ lexical des professionnels du vin puisque, pour la majorité d'entre eux, son utilisation est préférée aux nuances aromatiques particulières qu'il intègre. Cependant, en complément des deux principaux termes de « poivron vert » et « herbe coupée », descripteurs couramment employés, l'analyse sensorielle descriptive sur des vins rouges sélectionnés a aussi permis de relever l'importance des descripteurs qui se referaient à des nuances plus fraîches de type « mentholées, eucalyptus » par exemple. Nous avons alors cherché à caractériser la nature des déterminants moléculaires à l'origine de ces perceptions.

En premier lieu, un lien a été recherché entre l'expression végétale des vins rouges et la concentration en molécules répondant aux deux principaux descripteurs : 2-méthoxy-3-alkylpyrazines, et particulièrement l'IBMP, pour l'odeur de poivron ; alcools en C6 pour l'odeur d'herbe coupée. Pour mener à bien cette étude et pallier les difficultés de quantification des méthoxypyrazines dans le vin, une méthode a été développée en s'appuyant sur la technologie de spectrométrie de masse à triple quadrupôle (SM/SM). La fiabilité de l'analyse, validée par l'estimation de l'incertitude de la méthode, a rendu possible l'étude de la filiation entre l'odeur végétale des vins et les niveaux de concentrations de ces molécules. Cette étude, reposant sur une sélection de vins français à l'expression aromatique contrastée, a révélé des propriétés d'additivité entre les principales méthoxypyrazines qui contribuent à renforcer les nuances végétales des vins rouges. Pour autant, ces composés ne suffisent, à eux seuls, à expliquer ces nuances spécifiques dans la totalité des échantillons considérés ; rejoignant en cela plusieurs travaux antérieurs (Preston *et al.*, 2008 ; Scheiner *et al.*, 2011). De la même manière, et malgré leurs propriétés odorantes « herbacées », les alcools en C6 ne contribuent pas directement ou par d'éventuelles propriétés synergiques, en particulier avec l'IBMP, à l'expression végétale perçue dans les vins étudiés. Dès lors, la recherche de marqueurs moléculaires complémentaires, possédant des propriétés odorantes associées à la famille aromatique du végétal, est apparue incontournable.

Cette étude s'est d'abord articulée autour d'une première origine, associée au stade de maturité des raisins, avec de vins expérimentaux de Cabernet-Sauvignon élaborés à partir de

raisins récoltés à 1 mois d'intervalle. Le fractionnement par CLHP semi-préparative des extraits organiques de ces vins a permis d'isoler un groupe de fractions représentatives des différentes tonalités végétales perçues différemment entre les deux vins. Leur impact sensoriel a pu être validé par des tests d'omission et de reconstitution. Ensuite, la caractérisation des composés volatils associés aux nuances végétales dans ces fractions a été menée par MDCPG-O-SM. En plus de l'IBMP et de l'IPMP, la présence d'un grand nombre de zones odorantes végétales aux nuances variées a pu être établie et certains composés identifiés.

Une origine variétale du 1,8-cinéole ou eucalyptol – par opposition à l'origine exogène liée à la présence d'eucalyptus dans les vignobles de Californie (Hervé *et al.*, 2003) ou d'Australie (Capone *et al.*, 2011 ; 2012) –, en lien avec le stade de maturité des raisins, a notamment pu être démontré dans des vins de Cabernet-Sauvignon bordelais. Notre étude a également révélé que le niveau de concentration de ce composé pouvait atteindre des teneurs proches du seuil de détection olfactive dans les vins de Cabernet-Sauvignon, mais s'étendre jusqu'à 2 à 3 fois ces teneurs dans ceux de Fer Servadou (Fronton, Gaillac, Marcillac). Au delà d'un niveau de concentration de 0,7 µg/L, le 1,8-cinéole contribue à accroître de manière significative les nuances mentholées des vins, parfois dans des vins de Bordeaux, mais il tend également, par un effet d'hypo-addition partielle avec l'IBMP, à renforcer leur expression végétale dans la sous-famille du végétal frais. Le 1,8-cinéole est ainsi établi comme un contributeur de l'arôme variétal de certains vins rouges français ainsi qu'un marqueur de la maturité aromatique des raisins. Par ailleurs, les teneurs proportionnellement élevées de certains vins de Cabernet-Sauvignon de Pauillac nous ont conduits à nous interroger sur une autre origine. Ainsi, une source exogène de 1,8-cinéole, liée à la présence d'une espèce d'armoise dans le vignoble (*Artemisia verlotiorum*), a pu être démontrée. Cette première observation de l'influence des plantes de l'environnement viticole dans l'arôme des vins, autres que les arbres d'eucalyptus, apporte alors un regard nouveau sur leur considération et leur intégration dans la notion de terroir. En outre, l'étude de l'influence des plantes méditerranéennes sur les nuances végétales « d'herbes de Provence », typiques de certains vins rouges produits dans cet environnement, pourrait former l'une des poursuites de ce travail.

Parmi les autres constituants à l'odeur végétale identifiés dans les extraits de vins issus du fractionnement par CLHP d'intérêt, le salicylate de méthyle est apparu comme un composé d'intérêt à plusieurs titres. Bien que sa concentration ne soit pas liée à la maturité des raisins, il

représente un marqueur moléculaire décrit dans la littérature comme ayant une origine associée à la réaction de défense des plantes aux pathogènes. Nous avons ainsi pu montrer que la teneur de ce composé est accrue par la pression des maladies cryptogamiques des parties végétales de la vigne (mildiou, black rot) et du tronc (esca). En outre, les teneurs en salicylate de méthyle se situent dans une plage de concentrations d'impact sensoriel dans des vins expérimentaux provenant de vignes touchées par le mildiou, mais aussi dans quelques vins commerciaux dans lesquels ces origines sont suspectées. Les tests sensoriels ont révélé sa contribution à des notes végétales fraîches, camphrées et pharmaceutiques. Une dimension originale, considérant la réaction de la plante à un environnement cryptogamique comme un paramètre de la complexité, voire d'altération de l'arôme du vin, est alors ouverte avec la caractérisation de ce composé. Son identification ouvre donc de nouvelles perspectives de recherches concernant les signaux d'élicitation entre les plants de vigne ou d'attraction des prédateurs naturels des herbivores. Aussi, dans le cadre actuel de la problématique du dépérissement de la vigne, notre étude apporte un nouveau marqueur moléculaire de l'altération de son état physiologique.

Notre approche a aussi considéré une autre origine d'apparition des nuances végétales dans les vins, suggérée par l'étude sensorielle préliminaire et associée au niveau de pressurage des marcs. La dimension conceptuelle des vins de presse, d'un point de vue sensoriel, a été établie par le biais d'un questionnaire auprès des professionnels et sa dimension perceptuelle définie par la suite. Ainsi, nous avons pu établir l'existence d'un espace sensoriel propre à ces vins, étroitement lié à la famille aromatique du végétal. L'emploi d'une méthodologie joignant fractionnement par distillation sous vide et une caractérisation moléculaire et sensorielle par MDCPG-O a permis de révéler plusieurs marqueurs odoriférants associés de manière privilégiée à ces vins, notamment le (*Z*)-4-heptenol. L'impact sensoriel de ce dernier a été validé aux concentrations retrouvées dans les vins ; de même que l'augmentation de ses concentrations au cours du pressurage des marcs. Par ailleurs, la considération des alcools en C6, souvent suspectés d'être à l'origine de l'odeur « herbacée » caractéristique des vins de presse a révélé que seul le (*E*)-2-hexenol subit une augmentation de ses concentrations avec le pressurage et constitue aussi un marqueur associé à cette catégorie de vins. Malgré tout, les niveaux de concentration atteints restent inférieurs au seuil de détection olfactive de ce composé. L'hypothèse suggérée par la nature des molécules identifiées et selon laquelle les arômes spécifiques des vins de presse dériveraient d'un double phénomène, alliant trituration des parties solides et mécanismes oxydatifs impliquant les acides gras insaturés, a été aussi étudiée

au travers une gamme de composés carbonylés (alkanals, alkenals, alkadienals et alkenone). La considération de ces molécules présentes à l'état de trace et au fort pouvoir odorant, dont une partie d'entre elles avait été détectée lors du fractionnement par CLHP des vins expérimentaux, s'est appuyée sur le développement d'une méthode de quantification spécifique. L'analyse a révélé une tendance à l'accroissement des teneurs de ces composés dans le sens de la maturité des raisins, et la discrimination dans certains cas, des vins de presse par rapport aux vins de goutte correspondants. De même, la considération de leur impact sensoriel a mis au jour une combinaison particulière, susceptible d'accroître l'expression végétale caractéristique des vins de presse et incluant comme composés clés le (Z)-4-heptenol, le (Z)-4-heptenal, le (E,E)-2,6-nonadienal, le (E,Z)-2,6-nonadienal, le (E,E)-2,4-nonadienal, la (Z)-1,5-octadien-3-one et le décanal. Ces observations suggèrent aux vinificateurs d'être vigilants dans les modalités d'extraction au cours du pressurage des marcs, avec séparation des vins selon les niveaux de pression et en privilégiant la réalisation de la fermentation malolactique après le pressurage des marcs pour son action réductrice sur les aldéhydes insaturés. Cependant, la technologie d'inertage des marcs au cours du pressurage, dont l'efficacité a bien été établie au cours de la vinification des vins blancs (Nikolantonaki *et al.*, Oeno2011), n'apparaît pas en mesure de limiter significativement la formation de certains composés étudiés et l'expression végétale de ces vins.

Ce travail de thèse a donc permis de redéfinir la notion de composante aromatique « végétale » des vins, très souvent appliquée à leur description et au champ des odeurs. La combinaison des approches sensorielles et analytiques a révélé toute l'ampleur de ce caractère aromatique et une complexité de nuances aromatiques non limitée à l'IBMP. La connaissance de nouveaux marqueurs volatils de cette famille d'odeur confère alors des outils moléculaires permettant d'approfondir l'étude de l'impact de paramètres de maturation, mais aussi de paramètres technologiques au cours des différentes phases de la vinification. À ce jour, plusieurs molécules aux forts pouvoirs odorants restent cependant inconnues, malgré l'obtention de leur spectre de masse ; leur identification et leur étude constituent autant de perspectives de recherche. Si tous ces composés rejoignent la famille aromatique du végétal, ils sont chacun porteur de nuances qui permettront très certainement, à l'avenir, de mieux comprendre encore cette expression aromatique et ses tonalités, mais aussi ses diverses origines. L'identification de ces molécules représente l'un des enjeux à la poursuite de ces travaux.

Notre étude a ainsi permis d'élargir la définition sensorielle du descripteur « végétal » en y incluant, comme nous l'avons vu, des nuances dont l'odeur très fraîche est susceptible, finalement, de revêtir des dimensions hédoniques. Afin d'apprécier au plus juste la palette aromatique qu'offre ce terme tout en étant en mesure de rompre avec son caractère systématiquement péjoratif, ne conviendrait-il pas mieux, comme cela est appliqué par exemple à la description des eaux-de-vie nouvelle, de parler de nuances vertes, une terminologie largement répandue dans le monde anglo-saxon ? En effet, lorsque celles-ci ne dominent pas l'ensemble et forme un subtil équilibre avec les autres composantes, la complexité aromatique, pourfendeuse des lassitudes, passe assurément par elles.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**



- Acree, T., & Arn, H. (1997). Cornell University Flavornet, retrieved from <http://www.flavornet.org/flavornet.html>.
- Acree, T. E., Barnard, J., & Cunningham, D. G. (1984). A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chemistry*, 14(4), 273-286.
- Alberts, P., Stander, M. A., Paul, S. O., & De Villiers, A. (2009). Survey of 3-alkyl-2-méthoxypyrazine content of south african sauvignon blanc wines using a novel LC-APCI-MS/MS method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9347-9355.
- Aleixandre, J. L., Lizama, V., Alvarez, I., & García, M. J. (2002). Varietal differentiation of red wines in the Valencian region (Spain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 751-755.
- Allamy, A. (2015). Recherches sur les marqueurs moléculaires de l'arôme de "fruits cuits" des raisins et des vins rouges issus des cépages Merlot et Cabernet-Sauvignon. *Thèse de doctorat. Université de Bordeaux*.
- Allen, M. S. (2007). Green and mean aromas. In *proceedings : 13th Australian wine industry technical conference*, 56-64.
- Allen, M. S., Lacey, M. J., & Boyd, S. (1994). Determination of méthoxypyrazines in red wines by stable isotope dilution gas chromatography-mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(8), 1734-1738.
- Allen, M. S., Lacey, M. J., & Boyd, S. J. (1995). Méthoxypyrazines in red wines: Occurrence of 2-méthoxy-3-(1-méthylethyl)pyrazine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 769-772.
- Allen, M. S., Lacey, M. J., & Boyd, S. J. (1996). Existence of Different Origins for Méthoxypyrazines of Grapes and Wines. In *ACS Symposium Series*, vol. 637 (pp. 220-227).
- Allen, M. S., Lacey, M. J., Brown, W. V., & Harris, R. L. N. (1990). Occurrence of méthoxypyrazines in grapes of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon and Sauvignon blanc. In *Actualités Oenologiques 89:Comptes rendus du 4e Symposium International d'Oenologie*, Bordeaux, 1989. P. Ribéreau-Gayon and A. Lonvaud (eds.), *Institut d'OEnologie Université de Bordeaux II/Dunod, Paris.*, 25-30.
- Alonso, G. L., Salinas, M. R., Esteban-Infantes, F. J., & Sánchez-Fernández, M. A. (1996). Determination of Safranal from Saffron (*Crocus sativus* L.) by Thermal Desorption - Gas Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 185-188.
- Amanpour, A., Sonmezdag, A. S., Kelebek, H., & Selli, S. (2015). GC-MS-olfactometric characterization of the most aroma-active components in a representative aromatic extract from Iranian saffron (*Crocus sativus* L.). *Food Chemistry*, 182, 251-256.
- Amoore, J. E., Venstrom, D., & Davis, A. R. (1968). Measurement of specific anosmia. *Perceptual and Motor Skills*, 26(1), 143-164.
- Andujar-Ortiz, I., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J., & Pozo-Bayón, M. A. (2009). Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography-mass spectrometry analysis of wine volatile compounds. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7351-7357.



- Anocibar Beloqui, A., Kotseridis, Y., & Bertrand, A. (1996). Determination of the content of dimethyl sulphide in some red wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 30(3), 167-170.
- Antalick, G., Perello, M.-C., & de Revel, G. (2010). Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 121(4), 1236-1245.
- Antalick, G., Tempere, S., Suklje, K., Blackman, J. W., Deloire, A., de Revel, G., & Schmidtke, L. M. (2015). Investigation and Sensory Characterization of 1,4-Cineole: A Potential Aromatic Marker of Australian Cabernet Sauvignon Wine. *J Agric Food Chem*, 63(41), 9103-9111.
- Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62, 2145-2148.
- Augris, A. (1994). Caractérisation sensorielle de l'appellation Morgon. *Revue des Oenologues*, 72, 39-41.
- Augustyn, O. P. H., Rapp, A., & Wyk, J. (1982). Some Volatile Aroma Components of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 3, 53-60.

## B

- Baldwin, E. A., Goodner, K., Plotto, A., Pritchett, K., & Einstein, M. (2004). Effect of volatiles and their concentration on perception of tomato descriptors. *Journal of Food Science*, 69(8), S310-S318.
- Baldwin, I. T., Halitschke, R., Paschold, A., Von Dahl, C. C., & Preston, C. A. (2006). Volatile signaling in plant-plant interactions: "Talking trees" in the genomics era. *Science*, 311(5762), 812-815.
- Ballester, J. (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. Sciences de l'alimentation - Ciencia y tecnologia de los alimentos, Université de Bourgogne - Univesitat Politècnica de Valencia, Dijon - Valencia*.
- Ballester, J., Dacremont, C., Fur, Y. L., & 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.
- Barjolle, D., Boisseaux, S., & Dufour, M. (1998). Le lien au terroir. Bilan des travaux de recherche, ETHZ Institut d'économie rurale, Lausanne.
- Barney, J. N., Hay, A. G., & Weston, L. A. (2005). Isolation and characterization of allelopathic volatiles from mugwort (*Artemisia vulgaris*). 31(2).
- Baro, A. L. J., & Quiros, J. A. (1977). Les conditions de formation des aldehydes dans les vins. *Bulletin O.I.V.*, 554, 253.
- Baxter, R. L., Laurie, W. A., & McHale, D. (1978). Transformations of monoterpenoids in aqueous acids. The reactions of linalool, geraniol, nerol and their acetates in aqueous citric acid. *Tetrahedron*, 34(14), 2195-2199.

- Bayonove, C., Cordonnier, R. E., & Dubois, P. (1975). Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de la variété Cabernet-Sauvignon ; mise en évidence de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine. *C. R. Académie Science, D*, 281, 75-78.
- Begnaud, F., & Chaintreau, A. (2005). Multidimensional gas chromatography using a double cool-strand interface. *J Chromatogr A*, 1071(1-2), 13-20.
- Belancic, A., & Agosin, E. (2007). Méthoxypyrazines in grapes and wines of *Vitis vinifera* cv. Carmenere. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(4), 462-469.
- Bende, M., & Nordin, S. (1997). Perceptual learning in olfaction: Professional wine tasters versus controls. *Physiology and Behavior*, 62(5), 1065-1070.
- Berdin, G., & Dubourdieu, D. (2012). L'oenologie dans tous ses états. *Elytis Eds. Autour D'une Bouteille*.
- Berglund, B., Berglund, U., & Lindvall, T. (1976). Psychological processing of odor mixtures. *Psychological Review*, 83(6), 432-441.
- Berglund, B., & Olsson, M. J. (1993). Odor-Intensity Interaction in Binary Mixtures. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 19(2), 302-314.
- Bindon, K., Holt, H., Williamson, P. O., Varela, C., Herderich, M., & Francis, I. L. (2014). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 2. Wine sensory properties and consumer preference. *Food Chem*, 154, 90-101.
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., & Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chem*, 138(2-3), 1696-1705.
- Bisotto, A., Julien, A., Rigou, P., Schneider, R., & Salmon, J. M. (2015). Evaluation of the inherent capacity of commercial yeast strains to release glycosidic aroma precursors from Muscat grape must. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(2), 194-199.
- Black, C. A., Parker, M., Siebert, T. E., Capone, D. L., & Francis, I. L. (2015). Terpenoids and their role in wine flavour: recent advances. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21, 582-600.
- Blanchard, L., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2004). Reactivity of 3-mercaptohexanol in red wine: Impact of oxygen, phenolic fractions, and sulfur dioxide. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(2), 115-120.
- Bocker, C. (2014). Recherches sur les précurseurs du 3-sulfanylhéxanol des vins de sauvignon blanc. Bordeaux: Université de Bordeaux.
- Bogart, K., & Bisson, L. (2006). Persistence of vegetal characters in winegrapes and wine. *Practical Winery Vineyard*, 86, 13-20.
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 22, 275-293.
- Bordiga, M., Piana, G., Coisson, J. D., Travaglia, F., & Arlorio, M. (2014). Headspace solid-phase micro extraction coupled to comprehensive two-dimensional with time-of-flight mass spectrometry applied to the evaluation of Nebbiolo-based wine volatile aroma during ageing. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(3), 787-796.

- Botezatu, A., Kotseridis, Y., Inglis, D., & Pickering, G. J. (2016). A survey of méthoxypyrazines in wine. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 14(1), 24-29.
- Botezatu, A., & Pickering, G. J. (2012b). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds and odor impact of 2,5-dimethyl-3-méthoxypyrazine in wine. *Journal Food Science*, 77(11), S394-398.
- Botezatu, A., Pickering, G. J., & Kotseridis, Y. (2014). Development of a rapid method for the quantitative analysis of four méthoxypyrazines in white and red wine using multi-dimensional Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Chemistry*, 160, 141-147.
- Botezatu, A. I., Kotseridis, Y., Inglis, D., & Pickering, G. J. (2012a). Occurrence and contribution of alkyl méthoxypyrazines in wine tainted by *Harmonia axyridis* and *Coccinella septempunctata*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 803-810.
- Bouchilloux, P., Darriet, P., Henry, R., Lavigne-Cruège, V., & Dubourdieu, D. (1998). Identification of Volatile and Powerful Odorous Thiols in Bordeaux Red Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 3095-3099.
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, 1141(1), 1-9.
- Box, G. E. P., & Behnken, D. W. (1960). Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. *Technometrics*, 2(4), 455-475.
- Brás, I., Ratola, N., & Alves, A. (2011). Uncertainty in the quantification of pentachlorophenol in wood processing wastewaters by SPME-GC-MS. *Journal of Analytical Chemistry*, 66(8), 756-762.
- Breer, H. (2003). Olfactory receptors: Molecular basis for recognition and discrimination of odors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 377(3), 427-433.
- Brochet, F., & Dubourdieu, D. (2001). Wine descriptive language supports cognitive specificity of chemical senses. *Brain and Language*, 77(2), 187-196.
- Brodin, M., Laska, M., & Olsson, M. J. (2009). Odor interaction between bourgeonal and its antagonist undecanal. *Chemical Senses*, 34(7), 625-630.
- Brophy, J. J., & Southwell, I. A. (2002). Eucalyptus chemistry. In *Eucalyptus*; John, J. W. C., Ed.; CRC Press: New York, 36-51.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Nikiforov, A., Kaul, V. K., & Winker, N. (1996). Volatiles of the absolute of *Gardenia jasminoides* ellis (Rubiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 8(3), 241-245.
- Buck, L., & Axel, R. (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1), 175-187.
- Bueno, M., Carrascón, V., & Ferreira, V. (2016). Release and Formation of Oxidation-Related Aldehydes during Wine Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(3), 608-617.
- Burdock, G. A. (2002). Fenaroli's handbook of flavor ingredients. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

- Bushdid, C., Magnasco, M. O., Vosshall, L. B., & Keller, A. (2014). Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science*, 343(6177), 1370-1372.
- Bushey, M. M., & Jorgenson, J. W. (1990). Automated instrumentation for comprehensive two-dimensional high-performance liquid chromatography of proteins. *Analytical Chemistry*, 62(2), 161-167.
- Buttery, R. G. (1993). Quantitative and sensory aspects of flavor of tomato and other vegetables and fruits. In: T.E. Acree & R. Teranishi (Eds), *Flavor science; sensible principles and techniques*, American Chemical Society, Washington D.C., 259-286.
- Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., & Ling, L. C. (1969). Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(6), 1322-1327.
- Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., & Ling, L. C. (1971). Characterization of additional volatile components of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6(6), 524-529.
- Buttery, R. G., Seifert, R. M., & Ling, L. C. (1970). Characterization of some volatile potato components *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18, 538-539.
- Buttery, R. G., Teranishi, R., Ling, L. C., Flath, R. A., & Stern, D. J. (1988). Quantitative studies on origins of fresh tomato aroma volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(6), 1247-1250.

## C

- Cadot, Y. (2006). Le lien du vin au terroir : complexité du concept de typicité. *Revue des Oenologues*, 118, 9-11.
- Cai, L., Koziel, J. A., & O'Neal, M. E. (2007). Determination of characteristic odorants from *Harmonia axyridis* beetles using in vivo solid-phase microextraction and multidimensional gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry. *Journal of Chromatography A*, 1147(1), 66-78.
- Cain, W. S. (1979). To know with the nose: keys to odor identification. *Science*, 203(4379), 467-470.
- Cain, W. S., & Drexler, M. (1974). Scope and evaluation of odor counteraction and masking. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 237, 427-439.
- Cain, W. S., & Gent, J. F. (1991). Olfactory Sensitivity: Reliability, Generality, and Association With Aging. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 17(2), 382-391.
- Câmara, J. S., Arminda Alves, M., & Marques, J. C. (2006). Development of headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry methodology for analysis of terpenoids in Madeira wines. *Analytica Chimica Acta*, 555(2), 191-200.
- Campo, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2006a). Multidimensional chromatographic approach applied to the identification of novel aroma compounds in wine. Identification of ethyl cyclohexanoate, ethyl 2-hydroxy-3-methylbutyrate and ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate. *Journal of Chromatography A*, 1137(2), 223-230.

- Campo, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). The chemical characterization of the aroma of dessert and sparkling white wines (Pedro Ximénez, Fino, Sauternes, and Cava) by gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2477-2484.
- Campo, E., Ferreira, V., López, R., Escudero, A., & Cacho, J. (2006b). Identification of three novel compounds in wine by means of a laboratory-constructed multidimensional gas chromatographic system. *Journal of Chromatography A*, 1122(1-2), 202-208.
- Capone, D. L., Jeffery, D. W., & Sefton, M. A. (2012). Vineyard and fermentation studies to elucidate the origin of 1,8-cineole in Australian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(9), 2281-2287.
- Capone, D. L., Van Leeuwen, K., Taylor, D. K., Jeffery, D. W., Pardon, K. H., Elsey, G. M., & Sefton, M. A. (2011). Evolution and occurrence of 1,8-cineole (eucalyptol) in Australian wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(3), 953-959.
- Carrillo, J. D., Garrido-López, Á., & Tena, M. T. (2006). Determination of volatile oak compounds in wine by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1102(1-2), 25-36.
- Casabianca, F., Sylvander, B., Noël, Y., Béranger, C., Coulon, J. B., & Roncin, F. (2006). Terroir et Typicité : Propositions de définitions pour deux notions essentielles à l'appréhension des indications Géographiques et du développement durable. *VIe Congrès international sur les terroirs viticoles, Bordeaux-Montpellier 2-8 Juillet*.
- Castro, R., Natera, R., Benitez, P., & Barroso, C. G. (2004). Comparative analysis of volatile compounds of 'fino' sherry wine by rotatory and continuous liquid-liquid extraction and solid-phase microextraction in conjunction with gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 141-150.
- Celesti-Grapow, L., Pretto, F., Carli, E., & Blasi, C. (2010). Flora vascolare alloctona e invasiva delle regioni d'Italia. *Casa Editrice Università La Sapienza, Roma*, 208.
- Cerny, C., & Grosch, W. (1993). Quantification of character-impact odour compounds of roasted beef. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 196(5), 417-422.
- Chalal, M., Winkler, J. B., Gourrat, K., Trouvelot, S., Adrian, M., Schnitzler, J. P., Jamois, F., & Daire, X. (2015). Sesquiterpene volatile organic compounds (VOCs) are markers of elicitation by sulfated laminarine in grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 6(MAY), 1-9.
- Chapman, D. M., Matthews, M. A., & Guinard, J. X. (2004). Sensory attributes of Cabernet Sauvignon wines made from vines with different crop yields. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(4), 325-334.
- Chassagne, D., Crouzet, J., Bayonove, C. L., & Baumes, R. L. (1997). Glycosidically Bound Eugenol and Methyl Salicylate in the Fruit of Edible Passiflora Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2685-2689.
- Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1998). Identification of substances responsible for the 'sawdust' aroma in oak wood. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 179-188.
- Chatonnet, P., Fleury, A., & Boutou, S. (2010). Origin and incidence of 2-méthoxy-3,5-dimethylpyrazine, a compound with a "fungal" and "corky" aroma found in cork stoppers and oak chips in contact with wines. *J Agric Food Chem*, 58(23), 12481-12490.



- Chisholm, M. G., Guiher, L. A., Vonah, T. M., & Beaumont, J. L. (1994). Comparison of Some French-American Hybrid Wines With White Riesling Using Gas Chromatography-Olfactometry. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(2), 201-212.
- Chisholm, M. G., & Samuels, J. M. (1992). Determination of the impact of the metabolites of sorbic acid on the odor of a spoiled red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4), 630-633.
- Chkaiban, L., Botondi, R., Bellincontro, A., De Santis, D., Kefalas, P., & Mencarelli, F. (2007). Influence of postharvest water stress on lipoxygenase and alcohol dehydrogenase activities, and on the composition of some volatile compounds of Gewürztraminer grapes dehydrated under controlled and uncontrolled thermohygro-metric conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13(3), 142-149.
- Chollet, S., & Valentin, D. (2000). Le degré d'expertise a-t-il une influence sur la perception olfactive ? Quelques éléments de réponse dans le domaine du vin. *L'Année Psychologique*, 100, 11-36.
- Code de conduite plantes envahissantes. (2016). <http://www.codeplantesenvahissantes.fr/>.
- Coetzee, C., Brand, J., Emerton, G., Jacobson, D., Silva Ferreira, A. C., & du Toit, W. J. (2015). Sensory interaction between 3-mercaptopentan-1-ol, 3-isobutyl-2-méthoxypyrazine and oxidation-related compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(2), 179-188.
- Coetzee, C., Brand, J., Jacobson, D., & Du Toit, W. J. (2016). Sensory effect of acetaldehyde on the perception of 3-mercaptopentan-1-ol and 3-isobutyl-2-méthoxypyrazine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(2), 197-204.
- Coetzee, C., & du Toit, W. J. (2012). A comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols. *Food Research International*, 45(1), 287-298.
- Cox, A., Capone, D. L., Elsey, G. M., Perkins, M. V., & Sefton, M. A. (2005). Quantitative analysis, occurrence, and stability of (*E*)-1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3584-3591.
- Crouzet, J. (1986). Les enzymes et l'arôme des vins. *Revue Française d'Oenologie*, 102, 42-49.
- Crowell, E. A., & Guymon, J. F. (1975). Wine Constituents Arising from Sorbic Acid Addition, and Identification of 2-Ethoxyhexa-3,5-Diene as Source of Geranium-Like Off-Odor. *American Journal of Enology and Viticulture*, 26, 97-102.
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Analysis for wine C5–C8 aldehydes through the determination of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge. *Analytica Chimica Acta*, 524(1-2), 201-206.
- Culleré, L., Cacho, J., & 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.
- Culleré, L., Escudero, A., Campo, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2009). Multidimensional gas chromatography-mass spectrometry determination of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in wine and must. A comparison of solid-phase extraction and headspace solid-phase extraction methods. *Journal of Chromatography A*, 1216(18), 4040-4045.
- Cullere, L., Ferreira, V., & Cacho, J. (2011). Analysis, occurrence and potential sensory significance of aliphatic aldehydes in white wines. *Food Chem*, 127(3), 1397-1403.

- Currie, L. A., Eglinton, T. I., Benner, B. A., & Pearson, A. (1997). Accelerator Mass Spectrometry Radiocarbon “dating” of individual chemical compounds in atmospheric aerosol: First results comparing direct isotopic and multivariate statistical apportionment of specific polycyclic aromatic hydrocarbons. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 123(1), 475-486.
- Czerny, M., Wagner, R., & Grosch, W. (1996). Detection of Odor-Active Ethenylalkylpyrazines in Roasted Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(10), 3268-3272.

## D

- Dallüge, J., Beens, J., & Brinkman, U. A. T. (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool. *Journal of Chromatography A*, 1000(1-2), 69-108.
- Darriet, P., Lavigne, V., Boidron, J.N. & Dubourdieu, D. (1991). Caractérisation de l'arôme variétal des vins de Sauvignon par couplage CPG-Olfactométrie. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 25 (3), 167-174.
- Darriet, P., Pons, M., Henry, R., Dumont, O., Findeling, V., Cartolaro, P., Calonnec, A., & Dubourdieu, 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*, 50(11), 3277-3282.
- Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J. N., & Dubourdieu, D. (1995). Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var Sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(6), 385-392.
- De Mora, S. J., Knowles, S. J., Eschenbruch, R., & Torrey, W. J. (1987). Dimethyl sulfide in some Australian red wines. *Vitis*, 26, 79-84.
- De Moraes, C. M., Mescher, M. C., & Tumlinson, J. H. (2001). Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature*, 410(6828), 577-579.
- De Revel, G., & Bertrand, A. (1994). Dicarbonyl compounds and their reduction products in wine. Identification of wine aldehydes. In H. Maarse & D. G. van der Heij (Eds.), *Trends in flavour research, Elsevier: Science BV*, 353-361.
- Delort, E., Jaquier, A., Chapuis, C., Rubin, M., & Starkenmann, C. (2012). Volatile composition of oyster leaf (*Mertensia maritima* (L.) Gray). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(47), 11681-11690.
- Demarquay, G., Royet, J. P., Giraud, P., Chazot, G., Valade, D., & Rylvlin, P. (2006). Rating of olfactory judgements in migraine patients. *Cephalalgia*, 26(9), 1123-1130.
- Dennis, E. G., Keyzers, R. A., Kalua, C. M., Maffei, S. M., Nicholson, E. L., & Boss, P. K. (2012). Grape contribution to wine aroma: production of hexyl acetate, octyl acetate, and benzyl acetate during yeast fermentation is dependent upon precursors in the must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2638-2646.
- Des Gachons, C. P., Tominaga, T., & 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.
- Domínguez, A. M., & Eduardo, A. (2010). Gas chromatography coupled with mass spectrometry detection for the volatile profiling of *Vitis Vinifera* CV. Carménère wines. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 55(3), 385-391.
- Doty, R. L., & Cameron, E. L. (2009). Sex differences and reproductive hormone influences on human odor perception. *Physiology and Behavior*, 97(2), 213-228.
- Drawert, F., & Christophe, N. (1984). Analysis of volatiles. Methods and applications. In: Schreier P, editor. Berlin : Walter de Gruyter, 269-91.
- Dubourdieu, D. (2007). Valeur et typicité des vins de Bordeaux sur le marché mondial. *Actes de la 8ième journée technique du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux*, 27-28.
- Dubourdieu, D., Tominaga, T., Masneuf, I., Des Gachons, C. P., & Murat, M. L. (2006). The role of yeasts in grape flavor development during fermentation: The example of Sauvignon blanc. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(1), 81-88.
- Duchamp-Viret, P., Chaput, M. A., & Duchamp, A. (1999). Odor response properties of rat olfactory receptor neurons. *Science*, 284(5423), 2171-2179.
- Dunlevy, J. D., Dennis, E. G., Soole, K. L., Perkins, M. V., Davies, C., & Boss, P. K. (2013). A methyltransferase essential for the méthoxypyrazine-derived flavour of wine. *Plant Journal*, 75(4), 606-617.
- Dunlevy, J. D., Kalua, C. M., Keyzers, R. A., & Boss, P. K. (2009). The Production of Flavour & Aroma Compounds in Grape Berries. 293-340.
- Dunlevy, J. D., Soole, K. L., Perkins, M. V., Dennis, E. G., Keyzers, R. A., Kalua, C. M., & Boss, P. K. (2010). Two O-methyltransferases involved in the biosynthesis of méthoxypyrazines: grape-derived aroma compounds important to wine flavour. *Plant Mol Biol*, 74(1-2), 77-89.

## E

- Ebeler, S. E. (2012). Gas Chromatographic Analysis of Wines: Current Applications and Future Trends. In *Gas Chromatography*, (pp. 689-710).
- Egger, V., Svoboda, K., & Mainen, Z. F. (2003). Mechanisms of lateral inhibition in the olfactory bulb: Efficiency and modulation of spike-evoked calcium influx into granule cells. *Journal of Neuroscience*, 23(20), 7551-7558.
- Eglinton, T. I., Aluwihare, L. I., Bauer, J. E., Druffel, E. R., & McNichol, A. P. (1996). Gas chromatographic isolation of individual compounds from complex matrices for radiocarbon dating. *Analytical Chemistry*, 68(5), 904-912.
- Ellison, S. L. R., Rosslein, M., & Williams, A. (1995). Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. (Eds.), EURACHEM/CITAC, 1st ed., Teddington, UK.
- Engelberth, J., Alborn, H. T., Schmelz, E. A., & Tumlinson, J. H. (2004). Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(6), 1781-1785.



- Escudero, A., Cacho, J., & 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., & 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.
- Etievant, P. X., Callement, G., Langlois, D., Issanchou, S., & Coquibus, N. (1999). Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1673-1680.
- Etiévant, P. X., Issanchou, S. N., & Bayonove, C. L. (1983). The flavour of Muscat wine: the sensory contribution of some volatile compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 497-504.

## F

- Falcao, L. D., de Revel, G., Perello, M. C., Moutsiou, A., Zanus, M. C., & Bordignon-Luiz, M. T. (2007). A survey of seasonal temperatures and vineyard altitude influences on 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine, C13-norisoprenoids, and the sensory profile of Brazilian Cabernet Sauvignon wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9), 3605-3612.
- Fallon, A. E., & Rozin, P. (1983). The Psychological Bases Of Food Rejections By Humans. *Ecology of Food and Nutrition*, 13(1), 15-26.
- Fariña, L., Boido, E., Carrau, F., Versini, G., & Dellacassa, E. (2005). Terpene compounds as possible precursors of 1,8-cineole in red grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1633-1636.
- Feng, J. R., Xi, W. P., Li, W. H., Liu, H. N., Liu, X. F., & Lu, X. Y. (2015). Volatile characterization of major apricot cultivars of Southern Xinjiang Region of China. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 140(5), 466-471.
- Ferrari, G., Lablanquie, O., Cantagrel, R., Ledauphin, J., Payot, T., Fournier, N., & Guichard, E. (2004). Determination of key odorant compounds in freshly distilled cognac using GC-O, GC-MS, and sensory evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(18), 5670-5676.
- Ferreira, B., Hory, C., Bard, M. H., Taisant, C., Olsson, A., & 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, S. L., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandao, G. C., da Silva, E. G., Portugal, L. A., dos Reis, P. S., Souza, A. S., & dos Santos, W. N. (2007). Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytical Chimica Acta*, 597(2), 179-186.
- Ferreira, V. (2012). Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: A flavour chemistry view. Part 2: Qualitative aspects. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(3), 201-215.

- Ferreira, V., Culleré, L., López, R., & Cacho, J. (2004). Determination of important odor-active aldehydes of wine through gas chromatography-mass spectrometry of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge used for selective isolation. *Journal of Chromatography A*, 1028(2), 339-345.
- Ferreira, V., Hernández-Orte, P., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (1999). Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 864(1), 77-88.
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002a). 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*, 50(14), 4048-4054.
- Fillatre, Y. (2012). Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. *Thèse de doctorat à l'Université d'Angers*.
- Fischer, U., & Loewe-Stanienda, B. (1999). Importance du verre de dégustation dans l'évaluation sensorielle. In : *La dégustation. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 73-83.
- Franc, C., David, F., & de Revel, G. (2009). Multi-residue off-flavour profiling in wine using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(15), 3318-3327.
- Frederick, D. E., Barlas, L., Ievins, A., & Kay, L. M. (2009). A Critical Test of the Overlap Hypothesis for Odor Mixture Perception. *Behavioral Neuroscience*, 123(2), 430-437.
- Frerot, E., & Bagnoud, A. (2011). Easy access to aroma active unsaturated  $\gamma$ -lactones by addition of modified titanium homoenolate to aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 4057-4061.
- Fretz, C. B., Luisier, J. L., Tominaga, T., & Amadò, R. (2005). 3-Mercaptohexanol: An aroma impact compound of Petite Arvine wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(4), 407-410.
- Frøst, M. B., & Noble, A. C. (2002). Preliminary study of the effect of knowledge and sensory expertise on liking for red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 275-284.
- Fuller, G. H., Steltenkamp, R., & Tisserand, G. A. (1964). The gas chromatography with human sensor: Perfumer model. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 116, 711-724.

## G

- Galán-Soldevilla, H., Ruiz-Pérez-Cacho, M. P., Serrano Jiménez, S., Jodral Villarejo, M., & Bentabol Manzanares, A. (2005). Development of a preliminary sensory lexicon for floral honey. *Food Quality and Preference*, 16(1), 71-77.
- Gallois, A., Kergomard, A., & Adda, J. (1988). Study of the biosynthesis of 3-isopropyl-2-méthoxypyrazine produced by *Pseudomonas taetrolens*. *Food Chemistry*, 28(4), 299-309.
- Getchell, T. V. (1986). Functional properties of vertebrate olfactory receptor neurons. *Physiological Reviews*, 66(3), 772-818.

- Gilbert, A. N., & Wysocki, C. J. (1987). The smell survey results. *National Geographic*, 172, 514-524.
- Giraud, G. (2003). Les sciences du consommateur et la typicité. *Papier présenté devant le groupe de travail INRA-INAO "Terroir & typicité". ENITA Clermond-Ferrand*, 1-9.
- Giraud, G. (2004). Le jugement de typicalité et les produits typiques. *Complément au papier présenté en 2003 devant le groupe INRA-INAO Terroir & Typicité. ENITA Clermond-Ferrand*, 1-3.
- Godelmann, R., Limmert, S., & Kuballa, T. (2007). Implementation of headspace solid-phase-microextraction–GC–MS/MS methodology for determination of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in wine. *European Food Research and Technology*, 227(2), 449-461.
- Godinot, N. (1999). Contribution à l'étude de la perception olfactive: Qualité des odeurs et mélanges de composés odorants. *Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard, Lyon*.
- Goldner, M. C., & Zamora, M. C. (2007). Sensory characterization of vitis vinifera cv. Malbec wines from seven viticulture regions of Argentina. *Journal of Sensory Studies*, 22(5), 520-532.
- Golebiowski, J., Topin, J., Charlier, L., & Briand, L. (2012). Interaction between odorants and proteins involved in the perception of smell: The case of odorant-binding proteins probed by molecular modelling and biophysical data. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(6), 445-453.
- Górecki, T., Harynuk, J., & Panić, O. (2004). The evolution of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC x GC). *Journal of Separation Science*, 27(5-6), 359-379.
- Govindaraj, S., Kumari, B. D., Cioni, P. L., & Flamini, G. (2008). Mass propagation and essential oil analysis of *Artemisia vulgaris*. *Journal Bioscience Bioengineering* 105(3), 176-183.
- Gracia-Moreno, E., Lopez, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2011). Importance of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in red wines from Spain. In *Flavour Science, Proceedings 13th Weurman flavor symposium, Saragossa, 27-30/11/2011, Ferreira V., Lopez R. ed., Academic Press, San Diego, 2014*.
- Grimaldi, A., Bartowsky, E., & Jiranek, V. (2005). A survey of glycosidase activities of commercial wine strains of *Oenococcus oeni*. *International Journal of Food Microbiology*, 105(2), 233-244.
- Grosch, W. (1993). Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 4(3), 68-73.
- Grosch, W. (1994). Determination of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). *Flavour and Fragrance Journal*, 9, 147-158.
- Guillaumie, S., Ilg, A., Rety, S., Brette, M., Trossat-Magnin, C., Decroocq, S., Leon, C., Keime, C., Ye, T., Baltenweck-Guyot, R., Claudel, P., Bordenave, L., Vanbrabant, S., Duchene, E., Delrot, S., Darriet, P., Hugueney, P., & Gomes, E. (2013). Genetic analysis of the biosynthesis of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine, a major grape-derived aroma compound impacting wine quality. *Plant Physiology*, 162(2), 604-615.
- Guinard, J. X., & Cliff, M. (1987). Descriptive analysis of Pinot noir wines from Carneros, Napa, and Sonoma. *American Journal of Enology and Viticulture*(38), 211-215.

- GUM. (2008). Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure - GUM 1995 avec des corrections mineures *JCCGM 100:2008*, 2.
- Gunata, Y. Z., Bayonove, C. L., Baumes, R. L., & Cordonnier, R. E. (1985a). The aroma of grapes I. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. *Journal of Chromatography A*, 331(C), 83-90.
- Gunata, Y. Z., Bayonove, C. L., Baumes, R. L., & Cordonnier, R. E. (1985b). The aroma of grapes. Localisation and evolution of free and bound fractions of some grape aroma components c.v. Muscat during first development and maturation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(9), 857-862.
- Gürbüz, O., Rouseff, J. M., & 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. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027-3032.

## H

- Hammer, M., & Schieberle, P. (2013). Model studies on the key aroma compounds formed by an oxidative degradation of  $\omega$ -3 fatty acids initiated by either copper(II) Ions or lipoxygenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10891-10900.
- Harris, J. G., Lacey, M. J., Brown, W. V., & Allen, M. S. (1987). Determination of 2-méthoxy-3-alkylpyrazines in wine by gas chromatography/mass spectrometry. *Vitis*, 26, 201-207.
- Harsch, M. J., Benkwitz, F., Frost, A., Colonna-Ceccaldi, B., Gardner, R. C., & Salmon, J. M. (2013). New precursor of 3-mercaptohexan-1-ol in grape juice: Thiol-forming potential and kinetics during early stages of must fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(15), 3703-3713.
- Hartmann, P. J., McNair, H. M., & Zoecklein, B. W. (2002). Measurement of 3-alkyl-2-méthoxypyrazine by headspace solid-phase microextraction in spiked model wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 285-288.
- Hashizume, K., & Samuta, T. (1997). Green Odorants of Grape Cluster Stem and Their Ability to Cause a Wine Stemmy Flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1333-1337.
- Hashizume, K., & Samuta, T. (1999). Grape maturity and light exposure affect berry méthoxypyrazine concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(2), 194-198.
- Hashizume, K., Tozawa, K., Hiraga, Y., & Aramaki, I. (2001). Purification and characterization of a O-methyltransferase capable of methylating 2-hydroxy-3-alkylpyrazine from *Vitis vinifera* L. (cv. Cabernet Sauvignon). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 65(10), 2213-2219.
- Hashizume, K., & Umeda, N. (1996). Méthoxypyrazine content of Japanese red wines. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60(5), 802-805.
- Hatanaka, A. (1993). The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochemistry*, 34(5), 1201-1218.

- Hatanaka, A. (1996). The fresh green odor emitted by plants. *Food Reviews International*, 12(3), 303-350.
- Hatanaka, A., Kajiwara, T., & Harada, T. (1975). Biosynthetic pathway of cucumber alcohol: Trans-2,cis-6-nonadienol via cis-3,cis-6-nonadienal. *Phytochemistry*, 14(12), 2589-2592.
- Heil, M., & Karban, R. (2010). Explaining evolution of plant communication by airborne signals. *Trends Ecol Evol*, 25(3), 137-144.
- Hein, K., Ebeler, S. E., & Heymann, H. (2009). Perception of Fruity and Vegetative Aromas in Red Wine. *Journal of Sensory Studies*, 24(3), 441-455.
- Helwi, P., Habran, A., Guillaumie, S., Thibon, C., Hilbert, G., Gomes, E., Delrot, S., Darriet, P., & van Leeuwen, C. (2015). Vine Nitrogen Status Does Not Have a Direct Impact on 2-Méthoxy-3-isobutylpyrazine in Grape Berries and Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(44), 9789-9802.
- Herderich, M., Barter, S., Black, C. A., Bramley, R., Capone, D., Dry, P., Siebert, T., & Zhang, P. (2015). Terroir Effects on Grape and Wine Aroma Compounds. *1203*, 131-146.
- Herraiz, T., Herraiz, M., Reglero, G., Martin-Alvarez, P. J., & Cabezudo, M. D. (1990). Changes in the composition of alcohols and aldehydes of C6 chain length during the alcoholic fermentation of grape must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(4), 969-972.
- Herve, E., Price, S., & Burns, G. (2003). In Proceedings VIIème Symposium International d'OEnologie, Actualités OEnologiques, Bordeaux. *Lonvaud, A., De Revel, G., Darriet, P., Eds.; Tec & Doc; Lavoisier: Paris, France*, 598-600.
- Herz, R. S., Eliassen, J., Beland, S., & Souza, T. (2004). Neuroimaging evidence for the emotional potency of odor-evoked memory. *Neuropsychologia*, 42(3), 371-378.
- Heymann, H., & Noble, A. C. (1987). Descriptive Analysis of Commercial Cabernet Sauvignon Wines from California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 41-44.
- Hjelmeland, A. K., King, E. S., Ebeler, S. E., & Heymann, H. (2012). Characterizing the Chemical and Sensory Profiles of United States Cabernet Sauvignon Wines and Blends. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(2), 169-179.
- Hollnagel, A., Menzel, E.-M., & Mosandl, A. (1991). Chiral aroma compounds of sherry. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 193(3), 234-236.
- Hongsoongnern, P., & Chambers IV, E. (2008). A lexicon for green odor or flavor and characteristics of chemicals associated with green. *Journal of Sensory Studies*, 23(2), 205-221.
- Horwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemistry*, 54(1), 67A-76A.
- Horwitz, W. (2003). The certainty of uncertainty. *Journal AOAC International*, 86(1), 109-111.
- Horwitz, W., Kamps, L. R., & Boyer, K. W. (1980). Quality assurance in the analysis of foods and trace constituents. *Journal Association Off Analytical Chemistry*, 63(6), 1344-1354.
- Hui, Y. H., Chen, F., Nollet, L. M. L., Guiné, R. P. F., Le Quéré, J. L., Martín-Belloso, O., Mínguez-Mosquera, M. I., Paliyath, G., Pessoa, F. L. P., Sidhu, J. S., Sinha, N., & Stanfield, P. (2010). *Handbook of Fruit and Vegetable Flavors*.



## I

- Ikeura, H., Tsukamoto, N., Fukuhara, K., Li, X. X., Yamashita, S., Yui, S., Inaba, Y., Okimura, M., Tamaki, M., & Hayata, Y. (2009). Contribution of basic and characteristic compounds to strawberry and cultivar aroma in the Japanese strawberry. In *Acta Horticulturae*, vol. 842 (pp. 857-862).
- Imai, T. (2014). Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 35, 180-188.
- Infoflora. (2016). <https://www.infoflora.ch>.

## J

- Jaffré, J., Valentin, D., Meunier, J.-M., Siliani, A., Bertuccioli, M., & Le Fur, Y. (2011). The Chardonnay wine olfactory concept revisited: A stable core of volatile compounds, and fuzzy boundaries. *Food Research International*, 44(1), 456-464.
- Jain, N., Aggarwal, K. K., Syamasundar, K. V., Srivastava, S. K., & Kumar, S. (2001). Essential oil composition of geranium (*Pelargonium* sp.) from the plains of Northern India. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(1), 44-46.
- Jalali-Heravi, M., Zekavat, B., & Sereshti, H. (2006). Characterization of essential oil components of Iranian geranium oil using gas chromatography-mass spectrometry combined with chemometric resolution techniques. *Journal of Chromatography A*, 1114(1), 154-163.
- James, D. G., & Price, T. S. (2004). Field-testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. *Journal of Chemical Ecology*, 30(8), 1613-1628.
- Janusz, A., Capone, D. L., Puglisi, C. J., Perkins, M. V., Elsey, G. M., & Sefton, M. A. (2003). (E)-1-(2,3,6-Trimethylphenyl)buta-1,3-diene: A Potent Grape-Derived Odorant in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7759-7763.
- Jerkovic, I., Mastelic, J., Milos, M., Juteau, F., Masotti, V., & Viano, J. (2003). Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(5), 436-440.
- Jinks, A., & Laing, D. G. (1999). Temporal processing reveals a mechanism for limiting the capacity of humans to analyze odor mixtures. *Cognitive Brain Research*, 8(3), 311-325.
- Joerges, J., Küttner, A., Galizia, C. G., & Menzel, R. (1997). Representations of odours and odour mixtures visualized in the honeybee brain. *Nature*, 387(6630), 285-288.
- Johnson, A. J., Hirson, G. D., & Ebeler, S. E. (2012). Perceptual characterization and analysis of aroma mixtures using gas chromatography recomposition-olfactometry. *PLoS ONE*, 7(8).
- Joslin, W. S., & Ough, C. S. (1978). Cause and Fate of certain C6 Compounds Formed Enzymatically in Macerated Grape Leaves during Harvest and Wine Prefermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29, 11-17.

## K

- Kalua, C. M., & 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.
- Karban, R., Baldwin, I. T., Baxter, K. J., Laue, G., & Felton, G. W. (2000). Communication between plants: Induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia*, 125(1), 66-71.
- Karban, R., Yang, L. H., & Edwards, K. F. (2014). Volatile communication between plants that affects herbivory: a meta-analysis. *Ecological Letter*, 17(1), 44-52.
- Kay, L. M., Crk, T., & Thorngate, J. (2005). A redefinition of odor mixture quality. *Behavioral Neuroscience*, 119(3), 726-733.
- Kay, L. M., & Stopfer, M. (2006). Information processing in the olfactory systems of insects et vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 17, 433-442.
- Kemp, T. R., Knavel, D. E., & Stoltz, L. P. (1974). Identification of some volatile compounds from cucumber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22(4), 717-718.
- Kessler, A., & Baldwin, I. T. (2002). Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. In *Annual Review of Plant Biology*, vol. 53 (pp. 299-328).
- Keyzers, R. A., & Boss, P. K. (2010). Changes in the volatile compound production of fermentations made from musts with increasing grape content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1153-1164.
- Khilendra, G. (2007). Analysis of wintergreen oil. *Ecology Agriculture and Rural Development Society, Dolakha, Nepal*.
- Kim, J., Jang, M., Shin, E., Kim, J., Lee, S. H., & Park, C. G. (2016). Fumigant and contact toxicity of 22 wooden essential oils and their major components against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*.
- King, E. S., Osidacz, P., Curtin, C., Bastian, S. E. P., & Francis, I. L. (2011). Assessing desirable levels of sensory properties in Sauvignon Blanc wines - consumer preferences and contribution of key aroma compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), 169-180.
- King, E. S., Stoumen, M., Buscema, F., Hjelmeland, A. K., Ebeler, S. E., Heymann, H., & Boulton, R. B. (2014). Regional sensory and chemical characteristics of Malbec wines from Mendoza and California. *Food Chemistry*, 143, 256-267.
- Kleipool, R. J. C., Tas, A. C., & Van Straten, S. (1976). The identification of two natural beverage components. *Lebensm.-Wiss. Technology*, 9, 296-298.
- Koch, A., Ebeler, S. E., Williams, L. E., & Matthews, M. A. (2012). Fruit ripening in *Vitis vinifera*: light intensity before and not during ripening determines the concentration of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon berries. *Physiol Plant*, 145(2), 275-285.
- Konieczka, P., & Namiesnik, J. (2010). Estimating uncertainty in analytical procedures based on chromatographic techniques. *J Chromatogr A*, 1217(6), 882-891.

- Kotseridis, Y., & Baumes, R. (2000). Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 400-406.
- Kotseridis, Y., Baumes, R. L., Bertrand, A., & Skouroumounis, G. K. (1999). Quantitative determination of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine in red wines and grapes of Bordeaux using a stable isotope dilution assay. *Journal of Chromatography A*, 841(2), 229-237.
- Kotseridis, Y., Razungles, A., Bertrand, A., & Baumes, R. (2000). Differentiation of the aromas of Merlot and Cabernet Sauvignon wines using sensory and instrumental analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5383-5388.
- Kotseridis, Y. S., Spink, M., Brindle, I. D., Blake, A. J., Sears, M., Chen, X., Soleas, G., Inglis, D., & Pickering, G. J. (2008). Quantitative analysis of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in juice and wine using stable isotope labelled internal standard assay. *Journal of Chromatography A*, 1190(1-2), 294-301.
- Kováts, E. (1958). Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helvetica Chimica acta*, 41(7), 1915-1932.
- Kulkarni, R. N. (1998). Composition of the essential oils of two isomenthone-rich variants of geranium (*Pelargonium* sp.). *Flavour and Fragrance Journal*, 13(6), 389-392.
- Kunishima, M., Yamauchi, Y., Mizutani, M., Kuse, M., Takikawa, H., & Sugimoto, Y. (2016). Identification of (Z)-3:(E)-2-Hexenal isomerases essential to the production of the leaf aldehyde in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 291(27), 14023-14033.
- Kwon, T. Y., Park, J. S., & Jung, M. Y. (2013). Headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS2) method for the determination of pyrazines in perilla seed oils: impact of roasting on the pyrazines in perilla seed oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8514-8523.

## L

- Labbe, D., Rytz, A., & Hugi, A. (2004). Training is a critical step to obtain reliable product profiles in a real food industry context. *Food Quality and Preference*, 15(4), 341-348.
- Lacey, M. J., Allen, M. S., Harris, R. L. N., & Brown, W. V. (1991). Méthoxypyrazines in Sauvignon blanc Grapes and Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42, 103-108.
- Laing, D. G. (1994). Perceptual odour interactions and objective mixture analysis. *Food Quality and Preference*, 5(1-2), 75-80.
- Laing, D. G., & Francis, G. W. (1989). The capacity of humans to identify odors in mixtures. *Physiology and Behavior*, 46(5), 809-814.
- Laing, D. G., Panhuber, H., Willcox, M. E., & Pittman, E. A. (1984). Quality and intensity of binary odor mixtures. *Physiology and Behavior*, 33(2), 309-319.
- Lanza, D. C., & Clerico, D. M. (1995). Anatomy of the human nasal passages. in *Handbook of Olfaction and Gustation*, Doty R.L. Editor, Marcel Dekker Inc., New York, 53-73.



- Lattey, K. A., Bramley, B. R., & Francis, I. L. (2010). Consumer acceptability, sensory properties and expert quality judgements of Australian Cabernet Sauvignon and Shiraz wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1), 189-202.
- Laurent, M. H., Henick-Kling, T., & Acree, T. E. (1994). Changes in the aroma and odor of Chardonnay wine due to malolactic fermentation. *Die Wein Wissenschaft*, 49(1), 3-10.
- Lavignac, G. (2001). Les cépages du sud-ouest 2000 ans d'histoire. *éditions privat*.
- Lawless, H. T. (1984). Flavor Description of White Wine by "Expert" and Nonexpert Wine Consumers. *Journal of Food Science*, 49(1), 120-123.
- Lawless, H. T., & Engen, T. (1977). Associations to odors: interference, memories, and verbal labeling. *Journal of Experimental Psychology Human Learning and Memory*, 3, 52-59.
- Le Berre, E., Thomas-Danguin, T., Béno, N., Coureaud, G., Etiévant, P., & Prescott, J. (2008). Perceptual processing strategy and exposure influence the perception of odor mixtures. *Chemical Senses*, 33(2), 193-199.
- Le Fur, Y. (2010). Est-il possible de définir des espaces sensoriels détachés de toute subjectivité culturelle? In *9e Matinée des OEnologues*. Bordeaux, France.
- Ledauphin, J., Basset, B., Cohen, S., Payot, T., & Barillier, D. (2006). Identification of trace volatile compounds in freshly distilled Calvados and Cognac: Carbonyl and sulphur compounds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(1), 28-40.
- Lehrer, A. (2009). *Wine and Conversation*.
- Lewinsohn, E., Sitrit, Y., Bar, E., Azulay, Y., Meir, A., Zamir, D., & Tadmor, Y. (2005). Carotenoid pigmentation affects the volatile composition of tomato and watermelon fruits, as revealed by comparative genetic analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3142-3148.
- Linssen, J. P. H., Janssens, A. L. G. M., Reitsma, H. C. E., Bredie, W. L. P., & Roozen, J. P. (1993). Taste recognition threshold concentrations of styrene in oil-in-water emulsions and yoghurts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(4), 457-462.
- Linster, C., Johnson, B. A., Yue, E., Morse, A., Xu, Z., Hingco, E. E., Choi, Y., Choi, M., Messiha, A., & Leon, M. (2001). Perceptual correlates of neural representations evoked by odorant enantiomers. *Journal of Neuroscience*, 21(24), 9837-9843.
- Liu, Z., & Phillips, J. B. (1991). Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface. *Journal of Chromatographic Science*, 29(5), 227-231.
- Livermore, A., & Laing, D. G. (1998). The influence of chemical complexity on the perception of multicomponent odor mixtures. *Perception and Psychophysics*, 60(4), 650-661.
- López-Vázquez, C., Orriols, I., Perelló, M.-C., & de Revel, G. (2012). Determination of aldehydes as pentafluorobenzyl derivatives in grape pomace distillates by HS-SPME-GC/MS. *Food Chemistry*, 130(4), 1127-1133.
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & 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.
- Lopez, R., Gracia-Moreno, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2011). Development of a mixed-mode solid phase extraction method and further gas chromatography mass spectrometry for

- the analysis of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in wine. *Journal of Chromatography A*, 1218(6), 842-848.
- Lorrain, B., Tempere, S., Iturmendi, N., Moine, V., De Revel, G., & Teissedre, P. L. (2013). Influence of phenolic compounds on the sensorial perception and volatility of red wine esters in model solution: An insight at the molecular level. *Food Chemistry*, 140(1-2), 76-82.
- Lucker, J., Bowen, P., & Bohlmann, J. (2004). Vitis vinifera terpenoid cyclases: functional identification of two sesquiterpene synthase cDNAs encoding (+)-valencene synthase and (-)-germacrene D synthase and expression of mono- and sesquiterpene synthases in grapevine flowers and berries. *Phytochemistry*, 65(19), 2649-2659.
- Lytra, G., Tempere, S., Zhang, S., Marchand, S., De Revel, G., & Barbe, J. C. (2014). Olfactory impact of dimethyl sulfide on red wine fruity esters aroma expression in model solution. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 48(1), 75-85.

## M

- Maarse, H. (1991). Volatile Compounds in Foods and Beverages. 12 (New York, Basel, Hong Kong : Marcel Dekker), 5678-5691.
- Maarse, H., & Vischer, C. A. (1989). Volatile Compounds in Food, Alcoholic Beverages, Qualitative and Quantitative Data,. *TNO–CIVO, Food Analysis Institute, Zeist, The Netherlands*.
- Maga, J. A. (1989). Sensory and stability properties of added méthoxypyrazines to model and authentic wines. In: Charalambous G, editor. *Flavors and off-flavors, proceedings of the 6th Intl. Flavor Conference, Rethymnon, Crete, Greece, 5 to 7 July 1989. Amsterdam: Elsiever*, 61-70.
- Maga, J. A. (1992). Pyrazine Update. *Food Reviews International*, 8(4), 479-558.
- Maga, J. A., & Sizer, C. E. (1973). Pyrazines in foods. Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21(1), 22-30.
- Makhotkina, O., Pineau, B., & Kilmartin, P. A. (2012). Effect of storage temperature on the chemical composition and sensory profile of Sauvignon Blanc wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(1), 91-99.
- Malherbe, S., Menichelli, E., du Toit, M., Tredoux, A., Muller, N., Næs, T., & Nieuwoudt, H. (2013). The relationships between consumer liking, sensory and chemical attributes of Vitis vinifera L. cv. Pinotage wines elaborated with different Oenococcus oeni starter cultures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2829-2840.
- Mallinger, R. E., Hogg, D. B., & Gratton, C. (2011). Methyl salicylate attracts natural enemies and reduces populations of soybean aphids (Hemiptera: Aphididae) in soybean agroecosystems. *Journal of Economic Entomology*, 104(1), 115-124.
- Malnic, B., Hirono, J., Sato, T., & Buck, L. B. (1999). Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, 96(5), 713-723.
- Mamede, M. E. O., & Pastore, G. M. (2006). Study of methods for the extraction of volatile compounds from fermented grape must. *Food Chemistry*, 96(4), 586-590.

- Marais, J. (1979). Effect of storage time and temperature on the formation of dimethyl sulfide and on white wine quality. *Vitis*(18), 254-260.
- Marais, J., & Swart, E. (1999). Sensory impact of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one added to a neutral Sauvignon blanc wine *South African Journal of Enology and Viticulture*, 20(77-79).
- Martendal, E., Budziak, D., & Carasek, E. (2007). Application of fractional factorial experimental and Box-Behnken designs for optimization of single-drop microextraction of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole from wine samples. *Journal of Chromatography A*, 1148(2), 131-136.
- Martin, B., & Etiévant, P. (1991). Quantitative determination of solerone and sotolon in flor sherries by two-dimensional-capillary GC. *Journal of High Resolution Chromatography*, 14(2), 133-135.
- Martin, D. M., Aubourg, S., Schouwey, M. B., Daviet, L., Schalk, M., Toub, O., Lund, S. T., & Bohlmann, J. (2010). Functional annotation, genome organization and phylogeny of the grapevine (*Vitis vinifera*) terpene synthase gene family based on genome assembly, FLcDNA cloning, and enzyme assays. *BMC Plant Biol*, 10, 226.
- Martin, N., & De Revel, G. (1999). Sensory evaluation: scientific bases and oenological applications. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 33(SPEC ISS.), 81-93.
- Marullo, P., Bely, M., Masneuf-Pomarède, I., Pons, M., Aigle, M., & Dubourdieu, D. (2006). Breeding strategies for combining fermentative qualities and reducing off-flavor production in a wine yeast model. *FEMS Yeast Research*, 6(2), 268-279.
- Masanetz, C., & Grosch, W. (1998). Key odorants of parsley leaves (*Petroselinum crispum* [Mill.] Nym. ssp. *crispum*) by odour-activity values. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(2), 115-124.
- Mateo-Vivaracho, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2009). Selective preconcentration of volatile mercaptans in small SPE cartridges: Quantitative determination of trace odor-active polyfunctional mercaptans in wine. *Journal of Separation Science*, 32(21), 3845-3853.
- Mayr, C. M., Capone, D. L., Pardon, K. H., Black, C. A., Pomeroy, D., & Francis, I. L. (2015). Quantitative analysis by GC-MS/MS of 18 aroma compounds related to oxidative off-flavor in wines. *J Agric Food Chem*, 63(13), 3394-3401.
- Mayr, C. M., Parker, M., Baldock, G. A., Black, C. A., Pardon, K. H., Williamson, P. O., Herderich, M. J., & Francis, I. L. (2014a). Determination of the importance of in-mouth release of volatile phenol glycoconjugates to the flavor of smoke-tainted wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(11), 2327-2336.
- Mazo, R. M. (2006). A fluctuation theory analysis of the salting-out effect. *Journal of Physical Chemistry B*, 110(47), 24077-24082.
- McCloskey, L. P., Sylvan, M., & Arrhenius, S. P. (1996). Descriptive analysis for wine quality experts determining appellations by Chardonnay wine aroma. *Journal of Sensory Studies*, 11(1), 49-67.
- McDaniel, M. R., Miranda-Lopez, R., Watson, B. T., Micheals, N. J., & Libbey, L. M. (1990). Pinot noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. *Flavors and off flavors, Proceedings of the 6th International Flavor Conference, Rethymmon, Crete (Greece), Elsevier Science*.

- Melcher, J. M., & Schooler, J. W. (1996). The misremembrance of wines past: Verbal and perceptual expertise differentially mediate verbal overshadowing of taste memory. *Journal of Memory and Language*, 35(2), 231-245.
- Mendez-Costabel, M. P., Wilkinson, K. L., Bastian, S. E. P., Jordans, C., McCarthy, M., Ford, C. M., & Dokoozlian, N. (2014a). Effect of winter rainfall on yield components and fruit green aromas of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot in California. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1), 100-110.
- Mendez-Costabel, M. P., Wilkinson, K. L., Bastian, S. E. P., Jordans, C., McCarthy, M., Ford, C. M., & Dokoozlian, N. K. (2014b). Effect of increased irrigation and additional nitrogen fertilisation on the concentration of green aroma compounds in *Vitis vinifera* L. Merlot fruit and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1), 80-90.
- Mendez-Costabel, M. P., Wilkinson, K. L., Bastian, S. E. P., McCarthy, M., Ford, C. M., & Dokoozlian, N. (2013). Seasonal and Regional Variation of Green Aroma Compounds in Commercial Vineyards of *Vitis vinifera* L. Merlot in California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(4), 430-436.
- Mestres, M., Busto, O., & Guasch, J. (2000). Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. *Journal of Chromatography A*, 881(1-2), 569-581.
- Meyer, V. R. (2007). Measurement uncertainty. *Journal of Chromatography A*, 1158(1-2), 15-24.
- Milo, C. (1995). Thèse de doctorat. *Technical University, Munich*.
- Milo, C., & Grosch, W. (1993). Changes in the odorants of boiled trout (*Salmo fario*) as affected by the storage of the raw material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 2076-2081.
- Moio, L., & Etievant, P. X. (1995). Ethyl Anthranilate, Ethyl Cinnamate, 2,3-Dihydrocinnamate, and Methyl Anthranilate: Four Important Odorants Identified in Pinot noir Wines of Burgundy. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(3), 392-398.
- Moio, L., Schlich, P., & Etiévant, P. (1994). Acquisition et analyse d'aromagrammes de vins de Bourgogne issus du cépage Chardonnay. *Science des Aliments*, 14(5), 601-608.
- Moio, L., Schlich, P., Issanchou, S., Etievant, P., & 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(3), 179-189.
- Moreira, N., Mendes, F., Pereira, O., Guedes De Pinho, P., Hogg, T., & Vasconcelos, I. (2002). Volatile sulphur compounds in wines related to yeast metabolism and nitrogen composition of grape musts. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 157-167.
- Moreira, X., Nell, C. S., Katsanis, A., Rasmann, S., & Mooney, K. A. (2016). Herbivore specificity and the chemical basis of plant-plant communication in *Baccharis salicifolia* (Asteraceae). *New Phytologist*.
- Murray, K. E., Shipton, J., & Whitfield, F. B. (1970). 2-méthoxypyrazines and the flavour of green peas (*Pisum sativum*). *Chemistry and Industry*, 897-898.
- Murray, K. E., & Whitfield, F. B. (1975). The occurrence of 3-alkyls-2-méthoxypyrazines in raw vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 973-986.

## N

- Nehring, S., Kowarik, I., Rabitsch, W., & Essl, F. (2013). Naturschutzfachliche Invasivitätsbewertungen für in Deutschland wild lebende gebietsfremde Gefäßpflanzen. . 204.
- NF. ISO 3591 (1977) Analyse sensorielle-Appareillage-Verre à dégustation pour l'analyse sensorielle des vins. *In Analyse sensorielle. Paris : AFNOR.*
- NF. ISO 4120 (2007) Analyse sensorielle-Méthodologie-Essai triangulaire. *In Analyse sensorielle. Paris : AFNOR.*
- NF. ISO 5492 (2009) Analyse sensorielle-Vocabulaire. *In Analyse sensorielle. Paris : AFNOR.*
- NF. ISO 8589 (2007) Analyse sensorielle-Directives générales pour la conception de locaux destinés à l'analyse. *In Analyse sensorielle. Paris : AFNOR.*
- NF. ISO 13301 (2002) Analyse sensorielle-Méthodologie-Ligne directrices générales pour la mesure des seuil de détection d'odeurs, de flaveur et de goût par une technique à choix forcé de 1 parmi 3 (3-AFC). *In Analyse sensorielle. Paris : AFNOR.*
- NF. V 09-105 (1987) Analyse sensorielle-Directives générales pour l'implantation de locaux destinés à l'analyse sensorielle. *In Analyse sensorielle. Paris : AFNOR.*
- Nguyen, A. D., Shenton, M. E., & Levitt, J. J. (2010). Olfactory dysfunction in schizophrenia: A review of neuroanatomy and psychophysiological measurements. *Harvard Review of Psychiatry*, 18(5), 279-292.
- Nicod, H., Kieser, S., & Bremaud, D. (2006). L'expertise sensorielle : leurre ou réalité. *In Proceedings of the Le Sensolier, Les expertises sensorielles : nature et acquisition. Paris: Le Sensolier.*
- Nikolantonaki, M., & Darriet, P. (2011). Identification of ethyl 2-sulfanylacetate as an important off-odor compound in white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 10191-10199.
- Nikolantonaki, M., Jourdes, M., Shinoda, K., Teissedre, P. L., Quideau, S., & Darriet, P. (2012). Identification of adducts between an odoriferous volatile thiol and oxidized grape phenolic compounds: kinetic study of adduct formation under chemical and enzymatic oxidation conditions. *J Agric Food Chem*, 60(10), 2647-2656.
- Noble, A. C., Arnold, R. A., Buechsenstein, J., Leach, E. J., Schmidt, J. O., & Stern, P. M. (1987). Modification of a Standardized System of Wine Aroma Terminology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(2).
- Noble, A. C., & Schannon, M. (1987). Profiling zinfandel wines by sensory and chemical analyses. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(1-5).
- Noël, Y., & Sylvander, B. (2005). Proposition de définition de la typicité d'un produit issu de l'agriculture.
- Noguerol-Pato, R., Gonzalez-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Martinez, M. C., Santiago, J. L., & Simal-Gandara, J. (2012). Floral, spicy and herbaceous active odorants in Gran Negro grapes from shoulders and tips into the cluster, and comparison with Brancellao and Mouraton varieties. *Food Chemistry*, 135(4), 2771-2782.



## O

- OEPP. (2006). Nouveaux signalements de plantes envahissantes dans le comté de Šibenik et Knin (Croatie). *Service d'information, 1*.
- Olsson, M. J. (1998). An integrated model of intensity and quality of odor mixtures. In *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 855 (pp. 837-840).
- Ong, R. C. Y., & Marriott, P. J. (2002). A review of basic concepts in comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatographic Science, 40*(5), 276-291.

## P

- Paloc, J., Torres, P., Seguin, A., Pages, J., Bayonove, C., & 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 qualités des vins. *Actes du symposium International. Ed Revue Française d'oenologie, 40-46*.
- Palomo, E. S., Díaz-Maroto, M. C., Viñas, M. A. G., Soriano-Pérez, A., & Pérez-Coello, M. S. (2007). Aroma profile of wines from Albillo and Muscat grape varieties at different stages of ripening. *Food Control, 18*(5), 398-403.
- Park, S. K., Morrison, J. C., Adams, D. O., & Noble, A. C. (1991). Distribution of free and glycosidically bound monoterpenes in the skin and mesocarp of muscat of alexandria grapes during development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39*(3), 514-518.
- Park, S. W., Kaimoyo, E., Kumar, D., Mosher, S., & Klessig, D. F. (2007). Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science, 318*(5847), 113-116.
- Parr, W. V., Green, J. A., White, K. G., & Sherlock, R. R. (2007). The distinctive flavour of New Zealand Sauvignon blanc: Sensory characterisation by wine professionals. *Food Quality and Preference, 18*(6), 849-861.
- Parr, W. V., Heatherbell, D., & White, K. G. (2002). Demystifying wine expertise: Olfactory threshold, perceptual skill and semantic memory in expert and novice wine judges. *Chemical Senses, 27*(8), 747-755.
- Parr, W. V., Valentin, D., Green, J. A., & Dacremont, C. (2010). Evaluation of French and New Zealand Sauvignon wines by experienced French wine assessors. *Food Quality and Preference, 21*(1), 56-64.
- Parr, W. V., White, K. G., & Heatherbell, D. A. (2004). Exploring the nature of wine expertise: What underlies wine experts' olfactory recognition memory advantage? *Food Quality and Preference, 15*(5), 411-420.
- Patte, F., & Laffort, P. (1979). An alternative model of olfactory quantitative interaction in binary mixtures. *Chemical Senses and Flavor, 4*(4), 267-274.
- Pemberton, R. P., Ho, K. C., & Tantillo, D. J. (2015). Modulation of inherent dynamical tendencies of the bisaboly cation via preorganization in epi-isozizaene synthase. *Chemical Science, 6*(4), 2347-2353.

- Perestrelo, R., Petronilho, S., Câmara, J. S., & Rocha, S. M. (2010). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry combined with solid phase microextraction as a powerful tool for quantification of ethyl carbamate in fortified wines. The case study of Madeira wine. *Journal of Chromatography A*, 1217(20), 3441-3445.
- Perez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paúl, J., & Sanz, J. (2003). Variations in the essential oil composition of *Artemisia pedemontana* gathered in Spain: Chemotype camphor-1,8-cineole and chemotype davanone. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(1), 77-84.
- Perrin, L. (2008). Contribution méthodologique à l'analyse sensorielle du vin. *Thèse de doctorat à l'Université d'Angers*.
- Peynaud, E. (1981). Le goût du vin. *Dunod, Paris*.
- Peynaud, E. (1988). Le vin et les jours. *Dunod, Paris*.
- Peynaud, E., & Blouin, J. (2006). Le Goût du vin - Le grand livre de la dégustation. 4e édition. *Dunod, Paris*.
- Picard, M., Lytra, G., Tempere, S., Barbe, J. C., de Revel, G., & Marchand, S. (2016). Identification of Piperitone as an Aroma Compound Contributing to the Positive Mint Nuances Perceived in Aged Red Bordeaux Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 451-460.
- Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., & Marchand, S. (2015a). 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.
- Picard, M., Thibon, C., Redon, P., Darriet, P., De Revel, G., & Marchand, S. (2015b). Involvement of Dimethyl Sulfide and Several Polyfunctional Thiols in the Aromatic Expression of the Aging Bouquet of Red Bordeaux Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(40), 8879-8889.
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2008). Detection Thresholds for 2-Isopropyl-3-Méthoxypyrazine in Concord and Niagara Grape Juice. *Journal of Food Science*, 73(6), S262-S266.
- Pickering, G. J., Lin, Y., Reynolds, A., Soleas, G., Riesen, R., & Brindle, I. (2005). The influence of *Harmonia axyridis* on wine composition and aging. *Journal of Food Science*, 70(2), S128-S135.
- 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. Université Victor Segalen Bordeaux 2*.
- Pineau, B., Barbe, J. C., Leeuwen, C. V., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "Red-" and "Black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3702-3708.
- Piombino, P., Sinesio, F., Moneta, E., Cammareri, M., Genovese, A., Lisanti, M. T., Mogno, M. R., Peparaio, M., Termolino, P., Moio, L., & Grandillo, S. (2013). Investigating physicochemical, volatile and sensory parameters playing a positive or a negative role on tomato liking. *Food Research International*, 50(1), 409-419.

- Pogorzelski, E., & Wilkowska, A. (2007). Flavour enhancement through the enzymatic hydrolysis of glycosidic aroma precursors in juices and wine beverages: A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(4), 251-254.
- Polášková, P., Herszage, J., & Ebeler, S. E. (2008). Wine flavor: Chemistry in a glass. *Chemical Society Reviews*, 37(11), 2478-2489.
- Pons, A. (2006). Recherches l'arôme de vieillissement prématuré des vins. Bordeaux: Université Victor Segalen Bordeaux II.
- Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2016). Identification and analysis of piperitone in red wines. *Food Chemistry*, 206, 191-196.
- Pons, A., Lavigne, V., Eric, F., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2008). Identification of volatile compounds responsible for prune aroma in prematurely aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5285-5290.
- Preston, L. D., Block, D. E., Heymann, H., Soleas, G., Noble, A. C., & Ebeler, S. E. (2008). Defining vegetal aromas in cabernet sauvignon using sensory and chemical evaluations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(2), 137-145.
- Prouteau, C., Schneider, R., Lucchese, Y., Nepveu, F., Renard, R., & Vaca-Garcia, C. (2004). Improving headspace-solid-phase microextraction of 3-isobutyl-2-méthoxypyrazine by experimental design with regard to stable isotope dilution gas chromatography-mass spectrometric analysis of wine. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 223-227.

## R

- Radulović, N. S., & Dekić, M. S. (2013). Volatiles of *Geranium purpureum* Vill. and *Geranium phaeum* L.: Chemotaxonomy of Balkan geranium and *Erodium* species (Geraniaceae). *Chemistry and Biodiversity*, 10(11), 2042-2052.
- Rapp, A. (1998). Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung - Food*, 42(6), 351-363.
- Rather, M. A., Dar, B. A., Shah, W. A., Prabhakar, A., Bindu, K., Banday, J. A., & Qurishi, M. A. (2014). Comprehensive GC-FID, GC-MS and FT-IR spectroscopic analysis of the volatile aroma constituents of *Artemisia indica* and *Artemisia vestita* essential oils. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Ratola, N., Santos, L., Herbert, P., & Alves, A. (2006). Uncertainty associated to the analysis of organochlorine pesticides in water by solid-phase microextraction/gas chromatography-electron capture detection--evaluation using two different approaches. *Analytical Chimica Acta*, 573-574, 202-208.
- Ressler, K. J., Sullivan, S. L., & Buck, L. B. (1994). A molecular dissection of spatial patterning in the olfactory system. *Current Opinion in Neurobiology*, 4(4), 588-596.
- Rétiveau, A. N., Chambers Iv, E., & Milliken, G. A. (2004). Common and specific effects of fine fragrances on the mood of women. *Journal of Sensory Studies*, 19(5), 373-394.
- Reynolds, A. G., Yerle, S., Watson, B., Price, S. F., & Wardle, D. A. (1996). Fruit environment and crop level effects on Pinot noir. III. Composition and descriptive analysis of Oregon and British Columbia wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(3), 329-339.



- Ribéreau-Gayon, P., Boidron, J. N., & Terrier, A. (1975). Aroma of Muscat Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23, 1042-1047.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2012). *Traité d'Oenologie. 6e Edition. Dunod Paris, 1-2.*
- Riboul, D. (2013). Arômes de cassis du Fer Servadou : un mythe accessible ? *Les 1ères assises des vins du Sud-Ouest. 10, 11 décembre 2013, Toulouse.*
- Rigou, P., Triay, A., & Razungles, A. (2014). Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine. *Food Chemistry*, 142, 242-248.
- Risticevic, S., Lord, H., Górecki, T., Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (2010). Protocol for solid-phase microextraction method development. *Nature Protocols*, 5(1), 122-139.
- Robinson, A. L., Adams, D. O., Boss, P. K., Heymann, H., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2011a). The relationship between sensory attributes and wine composition for Australian Cabernet Sauvignon wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(3), 327-340.
- Robinson, A. L., Boss, P. K., Heymann, H., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2011b). Development of a sensitive non-targeted method for characterizing the wine volatile profile using headspace solid-phase microextraction comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(3), 504-517.
- Robinson, A. L., Ebeler, S. E., Heymann, H., Boss, P. K., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2009). Interactions between wine volatile compounds and grape and wine matrix components influence aroma compound headspace partitioning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10313-10322.
- Rocha, S. M., Coelho, E., Zrostlíková, J., Delgadillo, I., & Coimbra, M. A. (2007). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *Journal of Chromatography A*, 1161(1-2), 292-299.
- Rohmer, M. (1999). The discovery of a mevalonate-independent pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria, algae and higher plants. *Natural Product Reports*, 16(5), 565-574.
- Rosch, E. (1975). Cognitive representations of semantic categories. *Journal of Experimental Psychology: General*, 104(3), 192-233.
- Roujou de Boubée, D. (2000). Recherches sur la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine dans les raisins et les vins. Approches analytiques, biologique et agronomique. *Thèse de doctorat à l'Université de Bordeaux II.*
- Roujou de Boubée, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-méthoxy-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.
- Ryan, D., Watkins, P., Smith, J., Allen, M., & Marriott, P. (2005). Analysis of méthoxypyrazines 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., Leclerc, S., & Sacks, G. L. (2010). Correlation of 3-isobutyl-2-méthoxypyrazine to 3-Isobutyl-2-hydroxypyrazine during maturation of bell pepper (*Capsicum annuum*) and wine grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17), 9723-9730.
- Ryona, I., Pan, B. S., Intrigliolo, D. S., Lakso, A. N., & Sacks, G. L. (2008). Effects of cluster light exposure on 3-isobutyl-2-méthoxypyrazine accumulation and degradation patterns in red wine grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet franc). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10838-10846.
- Ryona, I., Pan, B. S., & Sacks, G. L. (2009). Rapid measurement of 3-alkyl-2-méthoxypyrazine content of winegrapes to predict levels in resultant wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8250-8257.

## S

- Sáenz-Navajas, M. P., Campo, E., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D., & Ferreira, V. (2010). Effects of the nonvolatile matrix on the aroma perception of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5574-5585.
- Sáenz-Navajas, M. P., Fernández-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Contribution of Nonvolatile Composition to Wine Flavor. *Food Reviews International*, 28(4), 389-411.
- Saison, D., De Schutter, D. P., Delvaux, F., & Delvaux, F. R. (2009). Determination of carbonyl compounds in beer by derivatisation and headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1216(26), 5061-5068.
- Sala, C., Busto, O., Guasch, J., & Zamora, F. (2005). Contents of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in musts and wines from *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon: influence of irrigation and plantation density. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1131-1136.
- Sala, C., Mestres, M., Martí, M. P., Busto, O., & Guasch, J. (2000). Headspace solid-phase microextraction method for determining 3-alkyl-2- méthoxypyrazines in musts by means of polydimethylsiloxane-divinylbenzene fibres. *Journal of Chromatography A*, 880(1-2), 93-99.
- Salas, J. J., Sánchez, J., Ramli, U. S., Manaf, A. M., Williams, M., & Harwood, J. L. (2000). Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research*, 39(2), 151-180.
- 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 Oenologues*, 85, 12-13.
- Salette, J. (2006). Agrément des vins d'appellations et typicité. *Le vigneron du Val de Loire*, 246.
- Saliba, A. J., Bullock, J., & Hardie, W. J. (2009). Consumer rejection threshold for 1,8-cineole (eucalyptol) in Australian red wine. *Food Quality and Preference*, 20(7), 500-504.
- San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., & 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.

- Sánchez-Palomo, E., Alañón, M. E., Díaz-Maroto, M. C., González-Viñas, M. A., & Pérez-Coello, M. S. (2009). Comparison of extraction methods for volatile compounds of Muscat grape juice. *Talanta*, 79(3), 871-876.
- Sanz, G., Thomas-Danguin, T., Hamdani, E. H., Le Poupon, C., Briand, L., Pernollet, J. C., Guichard, E., & Tromelin, A. (2008). Relationships between molecular structure and perceived odor quality of ligands for a human olfactory receptor. *Chemical Senses*, 33(7), 639-653.
- Sarrazin, E. (2007). Recherches sur l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble issus des cépages Semillon et Sauvignon blanc. *Thèse de doctorat. Université de Bordeaux II*.
- Sarrazin, E., Dubourdieu, D., & Darriet, P. (2007). Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, 103(2), 536-545.
- Sauvageot, F. (1990). Les caractéristiques d'une réponse sensorielle-intensité. *Evaluation sensorielle, Manuel méthodologique. SSHA, LAvoisier Tec et Doc, Apria*, 15-31.
- 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 ? *Sciences des Aliments*, 14, 557-571.
- Schaal, B., Coureaud, G., Doucet, S., Delaunay-El Allam, M., Moncomble, A. S., Montigny, D., Patris, B., & Holley, A. (2009). Mammary olfactory signalisation in females and odor processing in neonates: Ways evolved by rabbits and humans. *Behavioural Brain Research*, 200(2), 346-358.
- Scheiner, J. J., Vanden Heuvel, J. E., Pan, B., & Sacks, G. L. (2012). Modeling Impacts of Viticultural and Environmental Factors on 3-Isobutyl-2-Méthoxypyrazine in Cabernet franc Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(1), 94-105.
- Schmarr, H. G., Bernhardt, J., Fischer, U., Stephan, A., Müller, P., & Durner, D. (2010). Two-dimensional gas chromatographic profiling as a tool for a rapid screening of the changes in volatile composition occurring due to microoxygenation of red wines. *Analytica Chimica Acta*, 672(1-2), 114-123.
- Schmarr, H. G., Ganss, S., Koschinski, S., Fischer, U., Riehle, C., Kinnart, J., Potouridis, T., & Kutyrev, M. (2010). Pitfalls encountered during quantitative determination of 3-alkyl-2-méthoxypyrazines in grape must and wine using gas chromatography-mass spectrometry with stable isotope dilution analysis. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry and on-line liquid chromatography-multidimensional gas chromatography-mass spectrometry as potential loopholes. *J Chromatogr A*, 1217(43), 6769-6777.
- Schneider, R., Baumes, R., Bayonove, C., & Razungles, A. (1998). Volatile Compounds Involved in the Aroma of Sweet Fortified Wines (Vins Doux Naturels) from Grenache Noir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 3230-3237.
- Schneider, R., Charrier, F., Razungles, A., & Baumes, R. (2006). Evidence for an alternative biogenetic pathway leading to 3-mercaptohexanol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wines. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2 SPEC. ISS.), 58-64.
- Scholz, M. B. S., da Silva, J. V. N., de Figueiredo, V. R. G., & Kitzberger, C. S. G. (2013). Sensory attributes and physico-chemical characteristics of the coffee beverage from the IAPAR cultivars. *Coffee Science*, 8(1), 6-16.
- Schreier, P., Drawert, F., & Junker, A. (1976). Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24(2), 331-336.

- Schüttler, A. (2012). Influencing factors on aromatic typicality of wine from *Vitis vinifera* L. cv. Riesling-sensory, chemical and viticultural insights. *Thèse de doctorat. Université de Bordeaux Segalen*.
- Schüttler, A., Friedel, M., Jung, R., Rauhut, D., & Darriet, P. (2015). Characterizing aromatic typicality of Riesling wines: merging volatile compositional and sensory aspects. *Food Research International*, 69, 26-37.
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., & Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant J*, 54(4), 712-732.
- Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., Salles, M., & Baumes, R. L. (2004). Contribution of dimethyl sulfide to the aroma of syrah and grenache noir wines and estimation of its potential in grapes of these varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 7084-7093.
- Seifert, R. M., Buttery, R. G., Guadagni, D. G., Black, D. R., & Harris, J. G. (1970). Synthesis of some 2-méthoxy-3-alkylpyrazines with strong bell pepper-like odors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(2), 246-249.
- Selli, S., Kelebek, H., Ayseli, M. T., & Tokbas, H. (2014). Characterization of the most aroma-active compounds in cherry tomato by application of the aroma extract dilution analysis. *Food Chemistry*, 165, 540-546.
- Setkova, L., Risticvic, S., & Pawliszyn, J. (2007a). Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine volatile fraction. I. Method development and optimization. *Journal of Chromatography A*, 1147(2), 213-223.
- Setkova, L., Risticvic, S., & Pawliszyn, J. (2007b). Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine volatile fraction. II: Classification of Canadian and Czech ice wines using statistical evaluation of the data. *Journal of Chromatography A*, 1147(2), 224-240.
- Sharif, K. M., Chin, S. T., Kulsing, C., & Marriott, P. J. (2016). The microfluidic Deans switch: 50 years of progress, innovation and application. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 82, 35-54.
- Shulaev, V., Silverman, P., & Raskin, I. (1997). Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, 385(6618), 718-721.
- Siebert, T. E., Smyth, H. E., Capone, D. L., Neuwöhner, C., Pardon, K. H., Skouroumounis, G. K., Herderich, M. J., Sefton, M. A., & Pollnitz, A. P. (2005). Stable isotope dilution analysis of wine fermentation products by HS-SPME-GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381(4), 937-947.
- Silva Ferreira, A. C., De Pinho, P. G., Rodrigues, P., & Hogg, T. (2002). Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5919-5924.
- Silva Ferreira, A. C., Monteiro, J., Oliveira, C., & Guedes de Pinho, P. (2008). Study of major aromatic compounds in port wines from carotenoid degradation. *Food Chemistry*, 110(1), 83-87.
- Silva, S. L., Alves, A., & Santos, L. (2009). Uncertainty measurement of chlorophenols and PCBs analyzed in aqueous media by SPME-GC-ECD. *Journal of Chromatographic Science*, 47(2), 103-109.

- Simpson, R. F., Capone, D. L., & Sefton, M. A. (2004). Isolation and identification of 2-méthoxy-3,5-dimethylpyrazine, a potent musty compound from wine corks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5425-5430.
- Simpson, R. F., & Miller, G. C. (1984). Aroma composition of Chardonnay wine. *Vitis*, 23, 143-158.
- Sinding, C. (2012). Perception des mélanges d'odeurs : étude comportementale et psychophysique chez le lapin nouveau-né et l'homme adulte. *Thèse de doctorat à l'Université de Dijon*.
- Slabizki, P., Fischer, C., Legrum, C., & Schmarr, H. G. (2015). Characterization of Atypical Off-Flavor Compounds in Natural Cork Stoppers by Multidimensional Gas Chromatographic Techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(35), 7840-7848.
- Slegers, A., Angers, P., Ouellet, É., Truchon, T., & Pedneault, K. (2015). Volatile compounds from grape skin, juice and wine from five interspecific hybrid grape cultivars grown in Québec (Canada) for wine production. *Molecules*, 20(6), 10980-11016.
- Sohrabi, H. R., Bates, K. A., Weinborn, M. G., Johnston, A. N. B., Bahramian, A., Taddei, K., Laws, S. M., Rodrigues, M., Morici, M., Howard, M., Martins, G., MacKay-Sim, A., Gandy, S. E., & Martins, R. N. (2012). Olfactory discrimination predicts cognitive decline among community-dwelling older adults. *Translational Psychiatry*, 2.
- Solina, M., Baumgartner, P., Johnson, R. L., & Whitfield, F. B. (2005). Volatile aroma components of soy protein isolate and acid-hydrolysed vegetable protein. *Food Chemistry*, 90(4), 861-873.
- Solomon, G. E. A. (1990). Psychology of novice and expert wine talk. *American Journal of Psychology*, 109(4), 495-517.
- Spayd, S., Wample, R., Stevens, R., Evans, R., & Kawakami, A. (1993). Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington. Effects on petiole nutrient concentration, yield, yield components, and vegetative growth. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 378-386.
- Stafford, L. D., & Welbeck, K. (2011). High hunger state increases olfactory sensitivity to neutral but not food odors. *Chemical Senses*, 36(2), 189-198.
- Staiano, M., Saviano, M., Herman, P., Gryczynski, Z., Fini, C., Varriale, A., Parracino, A., Kold, A. B., Rossi, M., & D'Auria, S. (2008). Time-resolved fluorescence spectroscopy and molecular dynamics simulations point out the effects of pressure on the stability and dynamics of the porcine odorant-binding protein. *Biopolymers*, 89(4), 284-291.
- Stamatopoulos, P., Frérot, E., & Darriet, P. (2015). Evidence for perceptual interaction phenomena to interpret typical nuances of 'overripe' fruity aroma in bordeaux dessert wines. In *ACS Symposium Series*, vol. 1191 (pp. 87-101).
- Stamatopoulos, P., Frerot, E., Tempere, S., Pons, A., & 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.
- Stevenson, R. J., & Boakes, R. A. (2003). A Mnemonic Theory of Odor Perception. *Psychological Review*, 110(2), 340-364.



Strating, J., & Van Eerde, P. (1973). The staling of beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 79, 414-415.

Swoboda, P. A. T., & Peers, K. E. Metallic odour caused by vinyl ketones formed in the oxidation of butterfat. The identification of octa-1, cis-5-diene-3-one. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 1019-1024.

## T

Tegoni, M., Pelosi, P., Vincent, F., Spinelli, S., Campanacci, V., Grolli, S., Ramoni, R., & Cambillau, C. (2000). Mammalian odorant binding proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1482(1-2), 229-240.

Tempere, S., Cuzange, E., Bougeant, J. C., De Revel, G., & Sicard, G. (2012). Explicit sensory training improves the olfactory sensitivity of wine experts. *Chemosensory Perception*, 5(2), 205-213.

Tempere, S., Cuzange, E., Malak, J., Bougeant, J. C., De Revel, G., & Sicard, G. (2011). The training level of experts influences their detection thresholds for key wine compounds. *Chemosensory Perception*, 4(3), 99-115.

Tesnière, C., & Verriès, C. (2000). Molecular cloning and expression of cDNAs encoding alcohol dehydrogenases from *Vitis vinifera* L. during berry development. *Plant Science*, 157(1), 77-88.

Thiebaud, N., Johnson, M. C., Butler, J. L., Bell, G. A., Ferguson, K. L., Fadool, A. R., Fadool, J. C., Gale, A. M., Gale, D. S., & Fadool, D. A. (2014). Hyperlipidemic diet causes loss of olfactory sensory neurons, reduces olfactory discrimination, and disrupts odor-reversal learning. *Journal of Neuroscience*, 34(20), 6970-6984.

Thomas-Danguin, T., Rouby, C., Sicard, G., Vigouroux, M., Farget, V., Johanson, A., Bengtson, A., Hall, G., Ormel, W., De Graaf, C., Rousseau, F., & Dumont, J. P. (2003). Development of the ETOC: A European Test of Olfactory Capabilities. *Rhinology*, 41(3), 142-151.

Thomas-Danguin, T., Sinding, C., Romagny, S., El Mountassir, F., Atanasova, B., Le Berre, E., Le Bon, A., & Coureaud, G. (2014). The perception of odor objects in everyday life: a review on the processing of odor mixtures. *Frontier of Psychology*, 5(504).

Thompson, M. (2000). Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. *Analyst*, 125(3), 385-386.

Tomasino, E., Harrison, R., Breitmeyer, J., Sedcole, R., Sherlock, R., & Frost, A. (2015). Aroma composition of 2-year-old New Zealand Pinot Noir wine and its relationship to sensory characteristics using canonical correlation analysis and addition/omission tests. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(3), 376-388.

Tominaga, T., Baltenweck-Guyot, R., Peyrot des Gachons, C., & Dubourdieu, D. (2000). Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(2), 178-181.

Tominaga, T., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (1996). Identification of 3-mercaptohexyl acetate in sauvignon wine, a powerful aromatic compound exhibiting box-tree odor. *Vitis*, 35(4), 207-210.

- Tominaga, T., Des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998b). 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., & Dubourdieu, D. (1998a). Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(3), 159-162.
- Torregrosa, L., Pradal, M., Souquet, J. M., Rambert, M., Gunata, Z., & Tesniere, C. (2008). Manipulation of VvAdh to investigate its function in grape berry development. *Plant Science*, 174(2), 149-155.

## U

- Ubeda, C., San-Juan, F., Concejero, B., Callejón, R. M., Troncoso, A. M., Morales, M. L., Ferreira, V., & Hernández-Orte, P. (2012). Glycosidically bound aroma compounds and impact odorants of four strawberry varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(24), 6095-6102.
- Uchida, M., Shibata, Y., Kawamura, K., Yoneda, M., Mukai, H., Tanaka, A., Uehiro, T., & Morita, M. (2000). Isolation of individual fatty acids in sediments using preparative capillary gas chromatography (PCGC) for radiocarbon analysis at NIES-TERRA. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 172(1-4), 583-588.
- Ugliano, M., & Moio, L. (2005). Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 10134-10139.
- Ullrich, F., & Grosch, W. (1987). Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 184(4), 277-282.

## V

- Vacher, B., Pons, M., Dauphin, B., La Guerche, S., Blancard, D., Sauris, P., & Darriet, P. (2008). Déviations organoleptiques des moûts et des vins associées aux pourritures des raisins. Progression dans la connaissance des molécules odorantes mises en cause et des mécanismes de leur formation. *Revue des œnologues*, 129.
- Valentin, D., Chollet, S., & Abdi, H. (2003). Les mots du vin : experts et novices diffèrent-ils quand ils décrivent les vins ? *Corpus*, 2, 183-200.
- Vallet, A., Lucas, P., Lonvaud-Funel, A., & De Revel, G. (2008). Pathways that produce volatile sulphur compounds from methionine in *Oenococcus oeni*. *Journal of Applied Microbiology*, 104(6), 1833-1840.
- Vallet, A., Santarelli, X., Lonvaud-Funel, A., De Revel, G., & Cabanne, C. (2009). Purification of an alcohol dehydrogenase involved in the conversion of methional to methionol in *Oenococcus oeni* IOEB 8406. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(1), 87-94.

- Valova, I., Gueorguieva, N., Troescher, F., & Lapteva, O. (2007). Modeling of inhibition/excitation firing in olfactometry bulb through spiking neurons. *Neural Computing and Applications*, 16(4-5), 355-372.
- Van Den Boom, C. E. M., Van Beek, T. A., Posthumus, M. A., De Groot, A., & Dicke, M. (2004). Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetranychus urticae* feeding on plants from various families. *Journal of Chemical Ecology*, 30(1), 69-89.
- Van Leeuwen, C. (1991). Le vignoble de Saint-Emilion : répartition des sols et fonctionnement hydrique ; incidence sur le comportement de la vigne et la maturation des raisins. *Thèse de doctorat à l'Université de Bordeaux II*.
- Van Leeuwen, C., Roby, J. P., Alonso-Villaverde, V., & Gindro, K. (2013). Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* Cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1), 19-24.
- Van Wyngaard, E., Brand, J., Jacobson, D., & du Toit, W. J. (2014). Sensory interaction between 3-mercaptohexan-1-ol and 2-isobutyl-3-méthoxypyrazine in dearomatised Sauvignon Blanc wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(2), 178-185.
- Vancanneyt, G., Sanz, C., Farmaki, T., Paneque, M., Ortego, F., Castañera, P., & Sánchez-Serrano, J. J. (2001). Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(14), 8139-8144.
- Varming, C., Petersen, M. A., & Poll, L. (2004). Comparison of Isolation Methods for the Determination of Important Aroma Compounds in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice, Using Nasal Impact Frequency Profiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1647-1652.
- Vas, G., & Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(3), 233-254.
- Vassar, R., Ngai, J., & Axel, R. (1993). Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell*, 74(2), 309-318.
- Vesely, P., Lusk, L., Basarova, G., Seabrooks, J., & Ryder, D. (2003). Analysis of Aldehydes in Beer Using Solid-Phase Microextraction with On-Fiber Derivatization and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 6941-6944.
- Vilanova, M., & Soto, B. (2005). The impact of geographic origin on sensory properties of *vitis vinifera* cv. Mencía. *Journal of Sensory Studies*, 20(6), 503-511.

## W

- Wanikawa, A., Hosoi, K., Kato, T., & Nakagawa, K.-i. (2002). Identification of green note compounds in malt whisky using multidimensional gas chromatography. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(3), 207-211.



- Ward, S. C., Petrie, P. R., Johnson, T. E., Boss, P. K., & Bastian, S. E. P. (2015). Unripe Berries and Petioles in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon fermentations affect sensory and chemical profiles. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(4), 435-443.
- Wedler, H. B., Pemberton, R. P., & Tantillo, D. J. (2015). Carbocations and the Complex Flavor and Bouquet of Wine: Mechanistic Aspects of Terpene Biosynthesis in Wine Grapes. *Molecules*, 20(6), 10781-10792.
- Welke, J. E., Manfroi, V., Zanús, M., Lazarotto, M., & Alcaraz Zini, C. (2012). Characterization of the volatile profile of Brazilian Merlot wines through comprehensive two dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1226, 124-139.
- Welke, J. E., Manfroi, V., Zanús, M., Lazzarotto, M., & Alcaraz Zini, C. (2013). Differentiation of wines according to grape variety using multivariate analysis of comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection data. *Food Chemistry*, 141(4), 3897-3905.
- Welke, J. E., Zanús, M., Lazzarotto, M., & Alcaraz Zini, C. (2014). Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine. *Food Research International*, 59, 85-99.
- Wheelan, P., & Murphy, R. C. (1997). Quantitation of 5-lipoxygenase products by electrospray mass spectrometry: effect of ethanol on zymosan-stimulated production of 5-lipoxygenase products by human neutrophils. *Analytical Biochemistry*, 244(1), 110-115.
- Williams, P. J. (1993). Hydrolytic flavor release in fruit and wines through hydrolysis of nonvolatile precursors. Acree, T.E. and Teranishi, R., eds. *Flavor science sensible principles and techniques* (American Chemical Society: Washington, DC, USA), 287-309.
- Wilson, B., Strauss, C. R., & Williams, P. J. (1984). Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing Muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(4), 919-924.
- Wiltout, C., Dogra, S., & Linster, C. (2003). Configurational and nonconfigurational interactions between odorants in binary mixtures. *Behavioral Neuroscience*, 117(2), 236-245.
- Wise, M. L., Urbansky, M., Helms, G. L., Coates, R. M., & Croteau, R. (2002). Syn stereochemistry of cyclic ether formation in 1,8-cineole biosynthesis catalyzed by recombinant synthase from *Salvia officinalis*. *Journal of the American Chemical Society*, 124(29), 8546-8547.
- Wittstock, U., & Gershenzon, J. (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(4), 300-307.
- Wolters, C. J., & Allchurch, E. M. (1994). Effect of training procedure on the performance of descriptive panels. *Food Quality and Preference*, 5(3), 203-214.

X

- Xia, Y., Wang, Y., Mou, D., Li, Z., Cao, J., & Li, J. (2015). Differences of aroma note between Fujian and Yunnan flue-cured tobacco and their relationship with chemical components. *Tobacco Science and Technology*, 48(6), 68-72.

Y

- Yajima, I., Sakakibara, H., Ide, J., Yanai, T., & Hayash, K. (1985). Volatile flavor components of watermelon (*Citrullus vulgaris*). *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(11), 3145-3150.
- Yuan, F., & Qian, M. C. (2016). Aroma Potential in Early- and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 443-450.

Z

- Zapata, J., Mateo-Vivaracho, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2010). Comparison of extraction techniques and mass spectrometric ionization modes in the analysis of wine volatile carbonyls. *Anal Chim Acta*, 660(1-2), 197-205.
- Zhigzhitzhapova, S. V., Radnaeva, L. D., Gao, Q., Chen, S., & Zhang, F. (2016). Chemical composition of volatile organic compounds of *Artemisia vulgaris* L. (Asteraceae) from the Qinghai–Tibet Plateau. *Industrial Crops and Products*, 83, 462-469.
- Zhu, J., & Park, K. C. (2005). Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. *Journal of Chemical Ecology*, 31(8), 1733-1746.
- Zu, L., Xu, M., Lodewyk, M. W., Cane, D. E., Peters, R. J., & Tantillo, D. J. (2012). Effect of isotopically sensitive branching on product distribution for pentalenene synthase: Support for a mechanism predicted by quantum chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 134(28), 11369-11371.

# **ANNEXES**

**ANNEXE I – EXEMPLE D’UNE FICHE**  
**D’EVALUATION SENSORIELLE :**

***TEST TRIANGULAIRE / DETERMINATION D’UN SEUIL DE  
DETECTION OLFACTIVE***

NOM / PRENOM :

POSTE X

➤ *Pour chacune des séries, veuillez cocher l’échantillon qui vous percevez  
différemment des autres (voie orthonasale uniquement) :*

☐

155

☐

884

☐

032

☐

736

☐

783

☐

077

☐

821

☐

086

☐

481

☐

550

☐

600

☐

415

☐

908

☐

702

☐

932

☐

129

☐

905

☐

689

☐

654

☐

058

☐

643

## **ANNEXE II – EXEMPLE D’UNE FICHE**

### **D’EVALUATION SENSORIELLE :**

#### ***EVALUATION D’INTENSITE D’UN DESCRIPTEUR ODORANT***

NOM :

***POSTE X***

PRENOM :

Date :

- *Pour chacun des vins, évaluer l’intensité odorante de chaque descripteur sur l’échelle proposée :*

|   |  |              |
|---|--|--------------|
| <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 50px; margin: 0 auto;"></div> | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Poivron vert |
|   | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Mentholé     |

|   |  |              |
|---|--|--------------|
| <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 50px; margin: 0 auto;"></div> | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Poivron vert |
|   | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Mentholé     |

|   |  |              |
|---|--|--------------|
| <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 50px; margin: 0 auto;"></div> | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Poivron vert |
|   | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Mentholé     |

|   |  |              |
|---|--|--------------|
| <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 50px; margin: 0 auto;"></div> | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Poivron vert |
|   | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Mentholé     |

|   |  |              |
|---|--|--------------|
| <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 50px; margin: 0 auto;"></div> | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Poivron vert |
|   | <div style="position: absolute; left: 5px; top: -5px;">-</div> <div style="position: absolute; right: 5px; top: -5px;">+</div> | Mentholé     |

**ANNEXE III – EXEMPLE D’UNE FICHE**  
**D’EVALUATION SENSORIELLE :**  
***EVALUATION DU NIVEAU D’EXEMPLARITE***

NOM :

*POSTE X*

PRENOM :

Date :

- « Imaginez que vous devez expliquer à quelqu'un ce qu'est un vin végétal et un vin fruité. Pour chacun des vins présentés, vous devez répondre à cette question : pensez-vous qu'il est un bon ou un mauvais exemple de ce qu'est un **vin végétal** ? Un **vin fruité** ? un **vin de presse** ? »

Très mauvais exemple Très bon exemple

N° échan. - +

Très mauvais exemple Très bon exemple

N° échan. +

Très mauvais exemple Très bon exemple

N° échan. +



Très mauvais exemple Très bon exemple

N° échan. +

*Très mauvais exemple* *Très bon exemple*

|           |   |   |
|-----------|---|---|
| N° échan. | - | + |
|-----------|---|---|

**ANNEXE IV – EXEMPLE D’UNE FICHE**  
**D’EVALUATION SENSORIELLE :**  
***GENERATION LIBRE DE VOCABULAIRE***

NOM :

***POSTE X***

PRENOM :

Date :

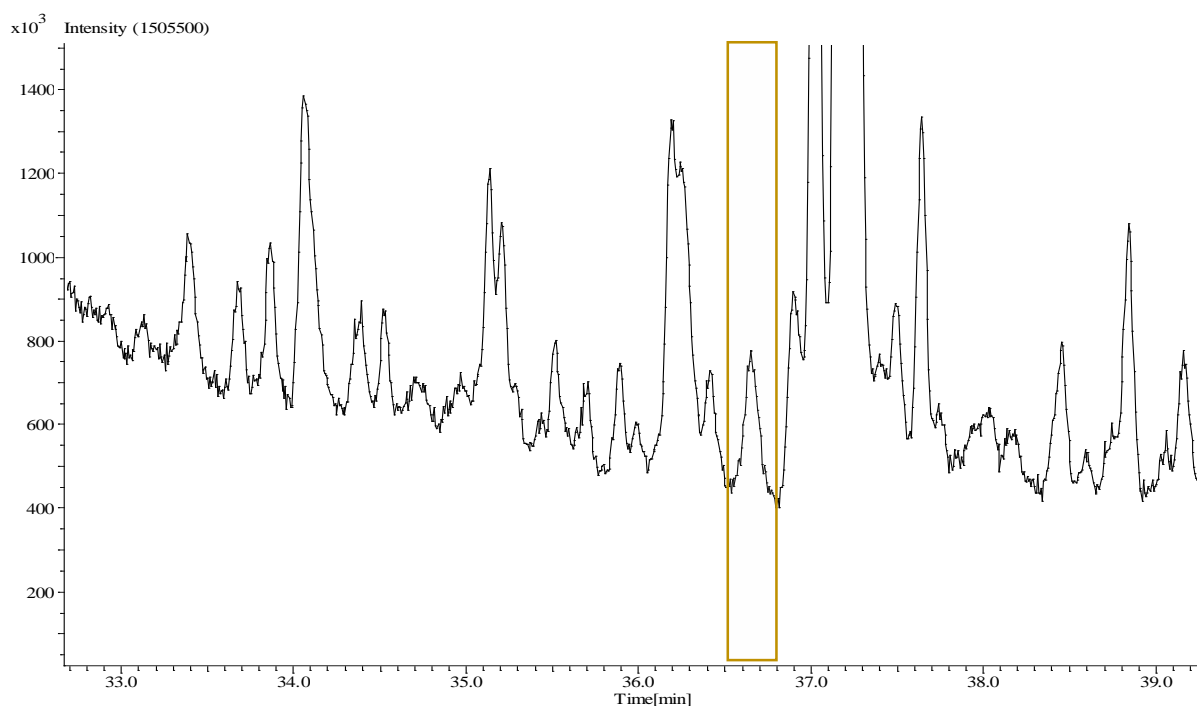
- « Pour chacun des échantillons, veuillez indiquer dans le cadre ci-dessous les descripteurs aromatiques qui vous semblent les plus appropriés pour les caractériser :

N° Echantillon

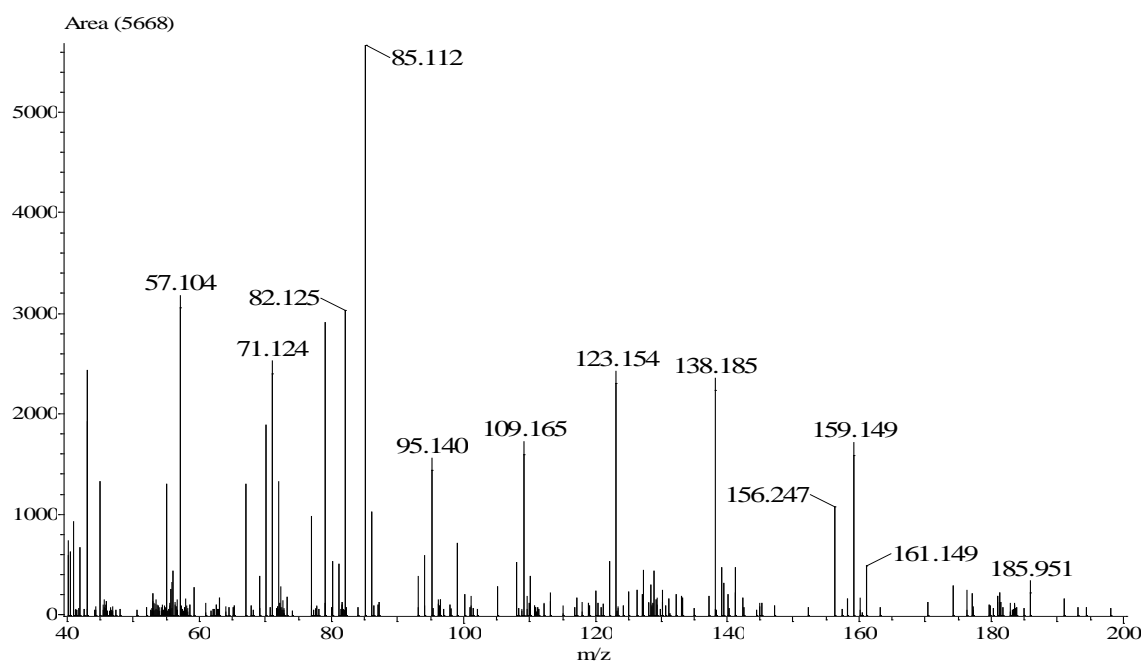
N° Echantillon

N° Echantillon

## ANNEXE V – ZO 6



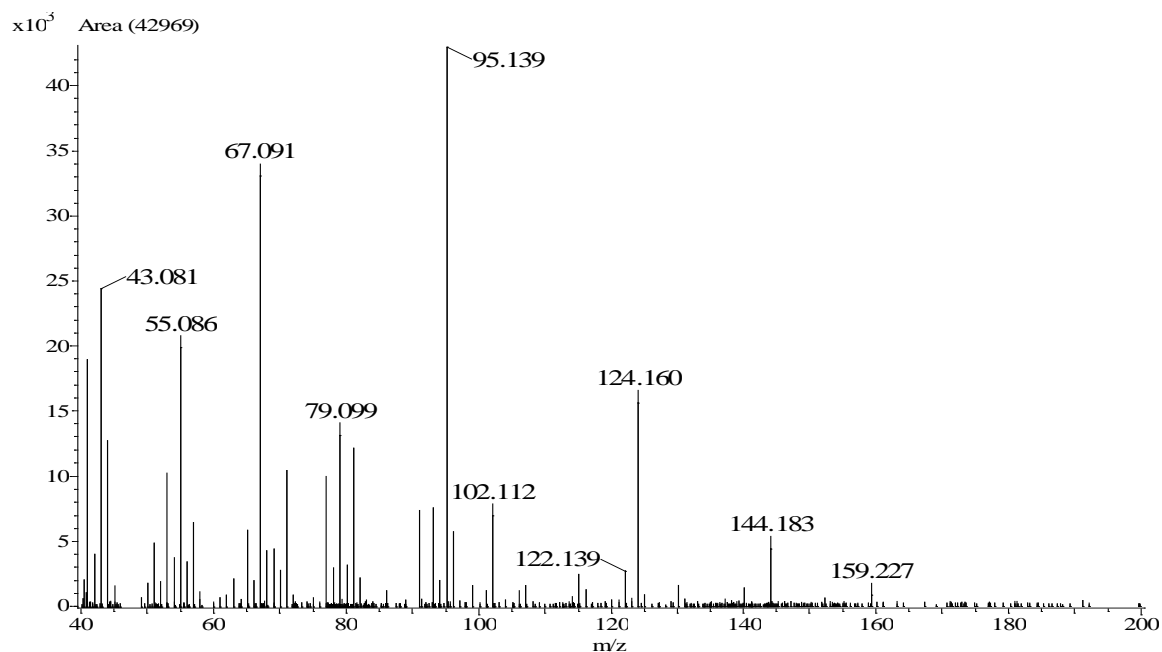
**Annexe 1.** Portion du chromatogramme obtenue après séparation de la ZO 6 sur la colonne BP1 par CPG multidimensionnelle (BP20 ; BP1) couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse à temps de vols (SM/TOF). La zone grisée correspond à la zone odorante.



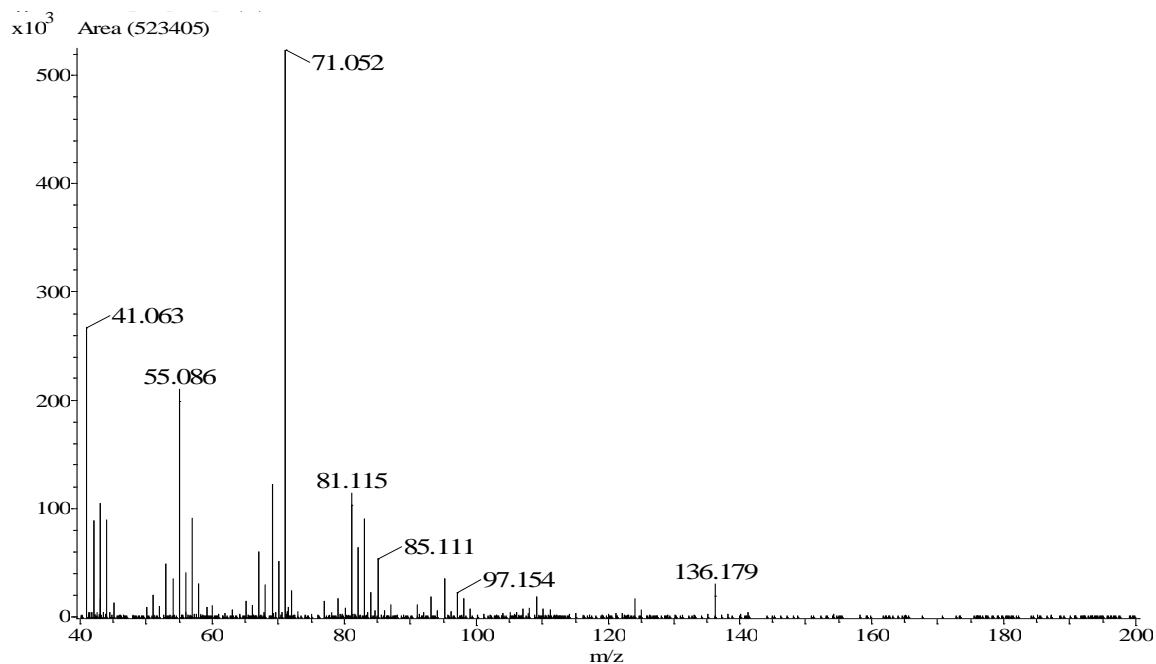
**Annexe 2.** Spectre de masse du composé associé à la ZO 6 obtenu par impact électronique (70 eV).



## **ANNEXE VI – ZO 11&12**

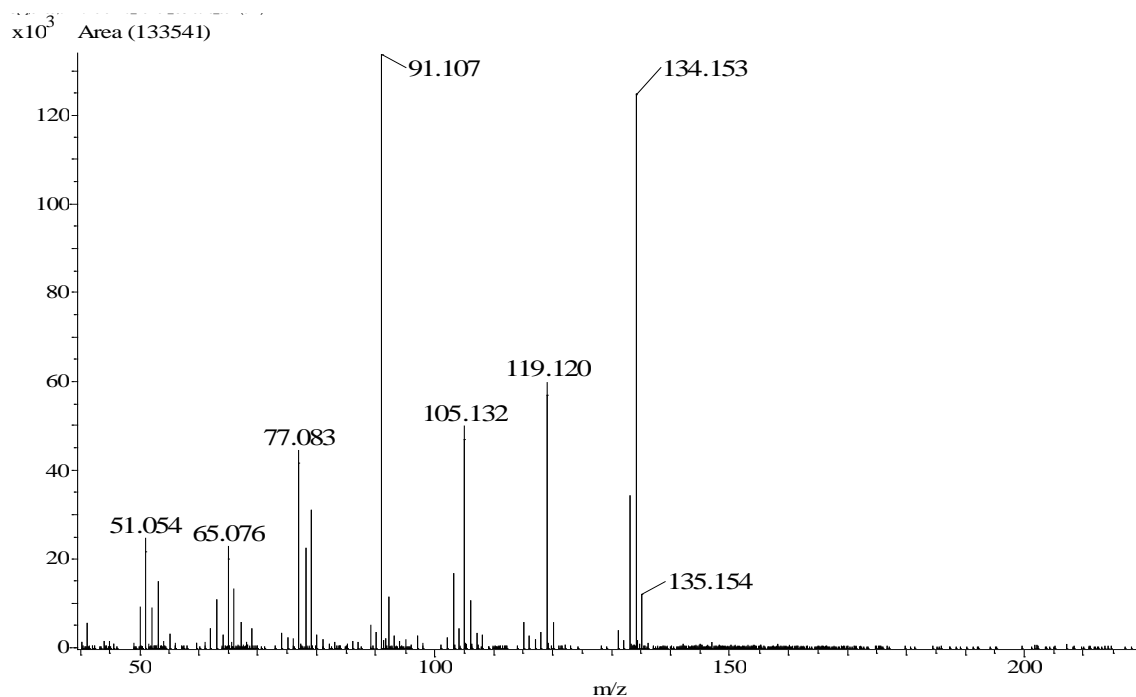


**Annexe 3. Spectre de masse du composé associé à la zone odorante 11 obtenu par impact électronique (70 eV).**



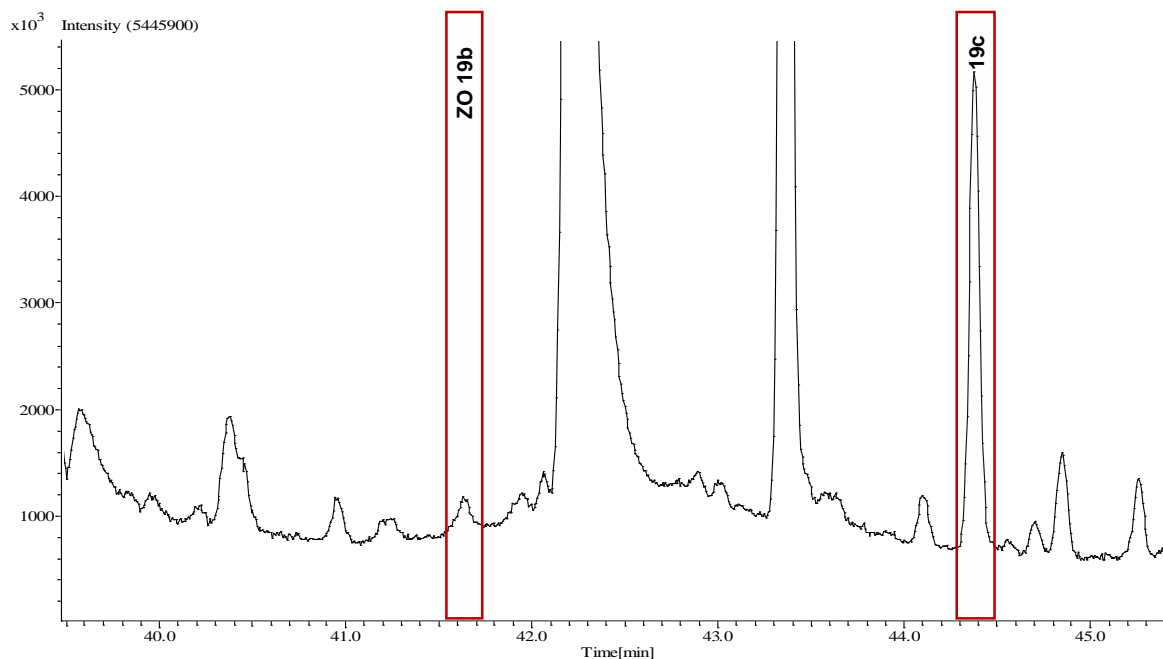
**Annexe 4. Spectre de masse du composé associé à la zone odorante 12 obtenu par impact électronique (70 eV).**

## **ANNEXE VII – ZO 15**

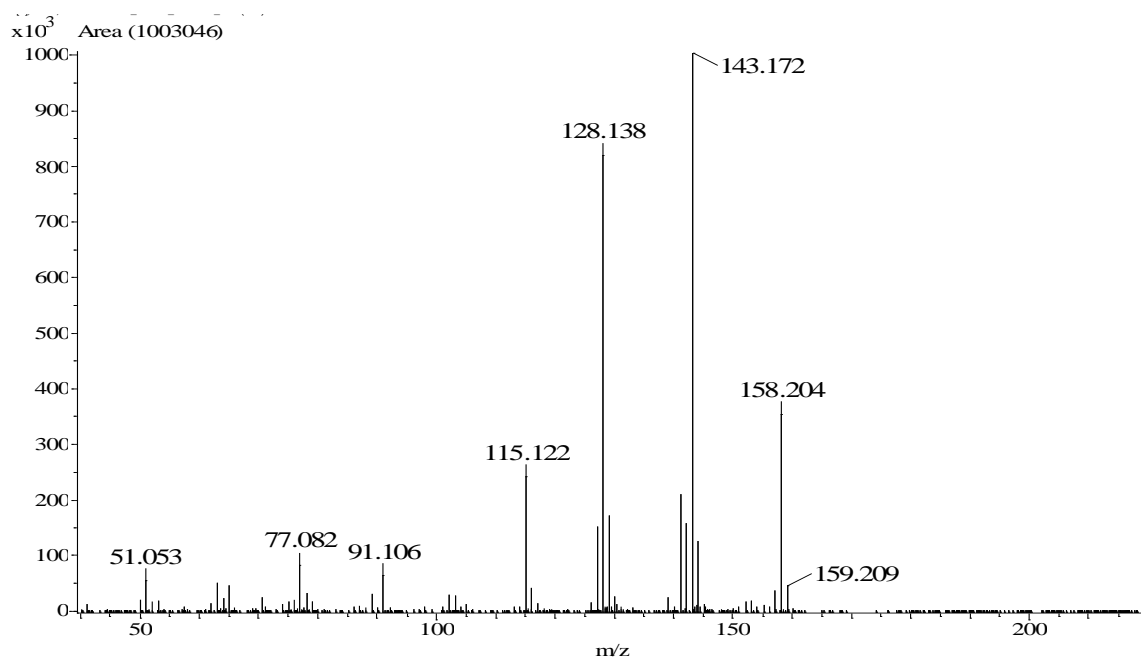


**Annexe 5. Spectre de masse du composé associé à la zone odorante 15 obtenu par impact électronique (70 eV).**

## **ANNEXE VIII – ZO 19b, 19c**

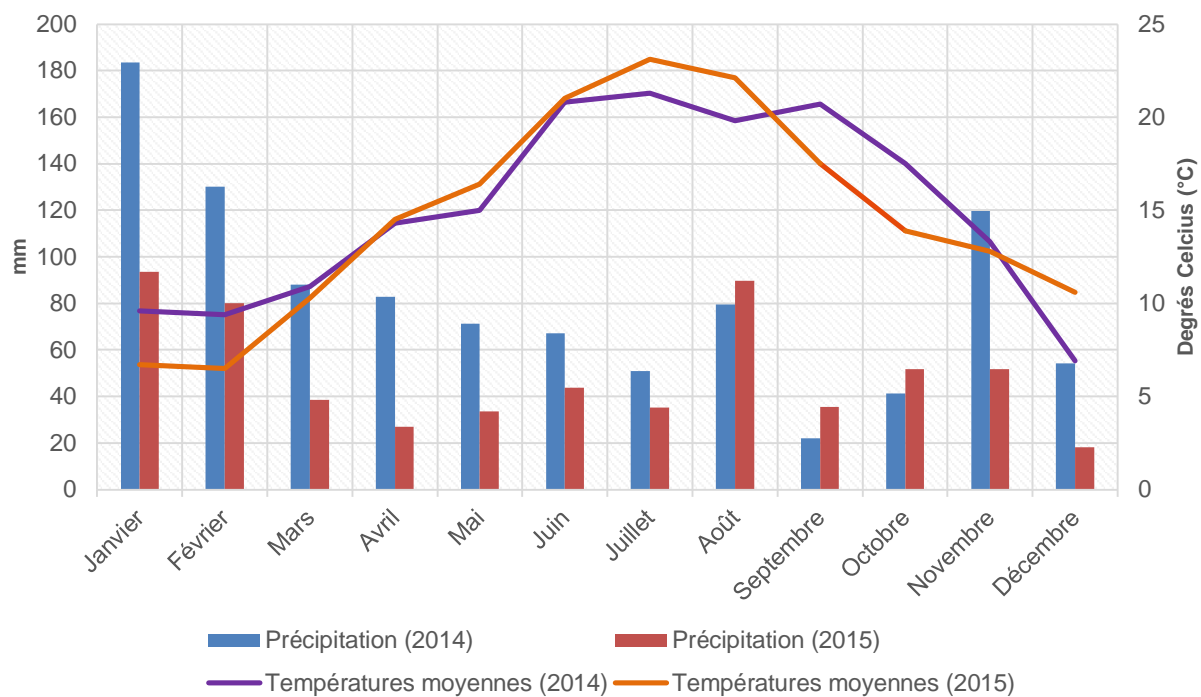


**Annexe 6. Portion du chromatogramme obtenue après séparation de la zone odorante 19 sur la colonne BP1 par CPG multidimensionnelle (BP20 ; BP1) couplée à l'olfactométrie et la spectrométrie de masse à temps de vols (SM/TOF).**



**Annexe 7. Spectre de masse du composé associé à la zone odorante 19c obtenu par impact électronique (70 eV).**

## **ANNEXE IX – Données climatique (2014, 2015)**



**Annexe 8. Données climatiques annuelles (précipitations, températures) à Bordeaux des années 2014 et 2015. Météo France.**