



**HAL**  
open science

# Valorisation du houblon de Corse et qualité aromatique des bières

Axel Dabbous-Wach

► **To cite this version:**

Axel Dabbous-Wach. Valorisation du houblon de Corse et qualité aromatique des bières. Autre. Université Pascal Paoli, 2022. Français. NNT : 2022CORT0015 . tel-04048656

**HAL Id: tel-04048656**

**<https://theses.hal.science/tel-04048656>**

Submitted on 28 Mar 2023

**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.



**UNIVERSITÉ DE CORSE-PASCAL PAOLI**  
**ÉCOLE DOCTORALE ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ**  
**UMR CNRS 6134 SPE**



**Thèse présentée pour l'obtention du grade de**  
**DOCTEUR EN CHIMIE**  
**Mention : Chimie organique, minérale, industrielle (32°)**

**Soutenue publiquement par**  
**AXEL DABBOUS-WACH**

le 30/11/2022

---

**VALORISATION DU HOUBLON DE CORSE ET QUALITÉ**  
**AROMATIQUE DES BIÈRES**

---

**Directeurs :**

M Julien PAOLINI, Docteur-HDR, Université de Corse  
M Jean COSTA, Professeur émérite, Université de Corse

**Rapporteurs :**

Mme Nathalie DUPUY, Professeure, Université d'Aix Marseille  
M Lhou MAJIDI, Professeur, Université de Meknès, Maroc

**Jury**

Mme Nathalie DUPUY, Professeure, Université d'Aix Marseille  
M Lhou MAJIDI, Professeur, Université de Meknès, Maroc  
M Félix TOMI, Professeur, Université de Corse  
M François LURO, Chargé de recherche HDR, INRAE de Corse  
M Julien PAOLINI, Docteur-HDR, Université de Corse  
M Jean COSTA, Professeur émérite, Université de Corse

*À mes parents et mon frère qui m'ont soutenu et poussé à aller toujours plus loin.  
À ma Grand-mère et à ma tante Lélé,  
vous qui, avant de rejoindre les étoiles, m'avez fait promettre de ne jamais baisser les bras.*

# REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier le Dr HDR Julien Paolini pour avoir accepté de diriger cette thèse en dépit de ses nombreuses responsabilités. Ses conseils avisés, nos discussions et son expérience m'ont été d'une aide considérable.

Ensuite, et du fond du cœur, je tiens à remercier le Pr Em Jean Costa qui m'a constamment poussé vers le haut et sans qui je n'aurais jamais eu l'opportunité d'en être là où je suis aujourd'hui. Depuis la deuxième année de Licence, il n'a eu de cesse de me conseiller et de m'encourager (surtout dans les périodes où ma motivation était chancelante). Il s'est parfois montré dur, mais jamais injuste, et toujours très compréhensif. Il m'a transmis la passion pour la chimie autant que pour la recherche et il a passé des heures et des heures (et des heures...) à discuter, rabâcher, à me lire, me relire, à me corriger et à me recadrer lorsque mon esprit vagabond s'évadait trop loin de la vision cartésienne. Sa bienveillance, sa générosité et son temps sont des présents précieux que je ne pourrai jamais oublier.

Je tiens à remercier les membres du juré de Thèse et du comité de suivi individuel pour leur implication et leurs nombreux conseils.

Je veux remercier mon tuteur professionnel Pierre-François Maestracci, pour m'avoir accueilli au sein de la Brasserie *Ribella* dont il est le gérant et de m'avoir guidé pour ce qui est du volet Entreprise de cette thèse. Dans ce sens, j'adresse un remerciement particulier au Dr Marion Brunel aux côtés de qui nous j'initié ces recherches sur le houblon de Corse, ainsi qu'à Jean-Marie Desjobert et Franck Renucci qui m'ont énormément appris concernant les méthodologies de travail en laboratoire, en général, et concernant les techniques chromatographiques, en particulier. Je leur sais gré de m'avoir fait découvrir, parfois subtilement, la profondeur de leur humour piquant et de leur insatiable bonne humeur.

Je tiens à remercier le Pr Tommaso Ganino, la Dr Margherita Rodolfi et toute leur équipe qui a travaillé avec implication sur la génétique du houblon de Corse. Il en va de même pour l'équipe de M Ludwig Locher qui a contribué aux études génétiques, chimiques et morphologiques des cultivars allemands étudiés. Malgré les difficultés engendrées par la crise de COVID-19, ces deux équipes ont su m'apporter une aide précieuse et des conseils avisés qui m'ont permis d'avancer.



Un remerciement sincère à tous mes collègues de la brasserie *Ribella*. Vous avez été nombreux et, à l'évidence, vous avez tous contribué à ma réussite. Je m'estime chanceux d'avoir pu vous rencontrer. Je voudrais remercier tout particulièrement Xavier Virely pour ses conseils, son implication scientifique et ses nombreuses explications concernant le monde de la brasserie. Je me dois de nommer Fred, Adrien et Baloo, qui ont été d'un soutien incroyable dans mes moments les plus difficiles, qui m'ont grandement aidé pour la récolte (et le tri...) du houblon, qui m'ont permis de m'évader le temps d'un rire, d'une soirée ou d'un week-end et qui m'ont donné la force de continuer. Merci à toi Baloo, fréro, pour ton amitié, pour tes nuits blanches à veiller sur Lùpulo et Freya et surtout pour Guns N'Roses. Enfin, merci à toute l'équipe pour les nombreuses soirées « dégustation » dont je ne me souviens pas de la fin.

Je crois bien que le monde de la recherche a parfois tendance à isoler, mais l'entourage de mes collègues et amis m'a toujours permis de sourire lorsque le ciel était gris. Ainsi, je remercie infiniment tous les doctorants de notre entourage et mes voisins de bureau. Je ne nommerai pas tout le monde, car le groupe est très large, mais ils se reconnaîtront. JV, ton humour et ta curiosité scientifique sont une force que chaque doctorant, que chaque personnel de laboratoire devrait avoir, mais surtout, merci pour notre fraternité et notre amitié que j'espère éternelle. Suga, Popo et Maga, merci pour votre joie de vivre contagieuse, pour les fous rires innombrables, et merci Popo d'être notre Soleil et merci Suga pour l'ascenseur. À vous trois et à Soso et Eva, vous les Émancipées, qui m'avez permis de m'évader et m'avez soutenu. Merci également à Thomas A. qui a été un ami, une oreille et une épaule. L'amitié est une chose rare qu'il faut cultiver, aussi, merci à vous qui ne m'avez jamais oublié et m'avez tant aidé : Saïd, Quentin et Sophie. À nos années passées et à venir, à nos folies, à nos voyages, à nos discussions parfois étonnamment sérieuses mais souvent complètement absurdes, à nos blagues trop lourdes, à nos galères. Merci Mathilde pour ton soutien, pour toutes les *mathildes* que tu as pu faire et surtout pour ta gentillesse. Gui et Nath, merci pour le Lignine Crew et nos *trop* nombreux projets !

J'ai eu l'incroyable chance de passer ces trois ans et demi entouré d'amis que je n'oublierai jamais. Je n'ai jamais été seul. Merci, évidemment, à la coloc. Au grand dam de nos voisins, hommage à nos soirées jusqu'à pas d'heure, à nos expérimentations pyrotechniques, à nos bastons, à nos rires, à nos cris, à nos éclats de folie. Merci pour l'évasion, pour le soutien, pour tolérer mes nombreux coups de gueule et mes tocs, pour les préveillons, pour la cabastok, pour Abysses 1 et 2, pour tous les souvenirs accrochés au mur de l'entrée et surtout merci d'être vous.

Un remerciement inconditionnel à ma famille. Vous êtes nombreux et avez tous été une lumière dans le tunnel lorsque je n'avais plus l'envie de persévérer. Les tragédies qui nous ont

fait ployer récemment ne nous ont pas brisé et n'ont fait que nous rapprocher davantage. Merci, particulièrement, à mes cousins cortenais BenJ (Marcus) et Drissou pour votre soutien et nos délires, mais surtout à ma sœur Anya et mon frère Bilel pour m'avoir toujours protégé, pour m'avoir permis de grandir, et pour avoir cru en moi alors que je doutais de moi-même. Merci à mes parents qui ont dû supporter, tout au long de ma vie, mes bêtises, mes caprices, mes crises d'adolescence et mes décisions têtues. Merci d'être là en tout temps.

Pour finir, je tenais à remercier ma grand-mère et ma tante qui ne sont plus parmi nous aujourd'hui, mais qui ont commencé cette thèse à mes côtés. Votre force ne m'a jamais quitté. Vous m'avez fait promettre de ne jamais baisser les bras malgré les difficultés et de cela, je vous serai éternellement reconnaissant.

# SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	3
TABLE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX.....	7
INTRODUCTION .....	11
CHAPITRE 1 État de l'Art .....	12
I. Botanique.....	12
II. Différenciation génétique .....	26
III. Composition chimique du houblon .....	27
CHAPITRE 2 Préparation des échantillons végétaux.....	35
I. Stratégie d'échantillonnage du houblon.....	36
II. Développement d'une houblonnière expérimentale .....	40
CHAPITRE 3 Aspect morphologique .....	54
I. Houblons corses spontanés .....	55
II. Houblons de Corse mis en culture .....	61
III. Les cultivars commerciaux .....	63
IV. Conclusion.....	66
CHAPITRE 4 Aspect chimique.....	67
I. Composés volatils des cônes.....	68
II. Composés volatils des tiges et feuilles.....	83
III. Composés phénoliques et amérisants des cônes.....	87
IV. Composés phénoliques et amérisants des tiges et feuilles.....	113
V. Approche préliminaire de la génétique du houblon de Corse.....	116
VI. Contribution aux techniques de brassage de Ribella .....	119
VII. Classification chimique des houblons de Corse .....	126
CHAPITRE 5 Nouveau chapitre de thèse (NCT) .....	129
I. Introduction .....	130
II. L'histoire de la bière en Corse .....	131
III. Économie de l'agroalimentaire corse.....	144
IV. Le futur de la bière en Corse.....	153
V. Conclusion.....	168
CONCLUSION GÉNÉRALE .....	169
PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	172
ANNEXES.....	183
RÉFÉRENCES.....	186
RÉSUMÉ .....	196
ABSTRACT.....	197
RIASSUNTU .....	198

# TABLE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX

## *Tableaux*

Tableau 1 : Caractérisation chimique des huiles essentielles des cultivars commerciaux de houblon par CPG-SM (%) <sup>42,52-56,58</sup> .....	30
Tableau 2 : Cultivars aromatisants ou amérissants.....	33
Tableau 3 : Houblons de Corse échantillonnés.....	36
Tableau 4 : Échantillonnage des houblons de Corse.....	38
Tableau 5 : Cultivars commerciaux échantillonnés .....	39
Tableau 6 : Paramètres de différenciation phénotypique selon l'UPOV.....	56
Tableau 7 : Description morphologique des houblons de Corse spontanés .....	57
Tableau 8 : Description morphologique des houblons de Corse mis en culture.....	61
Tableau 9 : Composition des huiles essentielles des variétés commerciales.....	69
Tableau 10 : Composés identifiés par CPG-DIF et CPG-SM dans les huiles essentielles des houblons de Corse spontanés.....	72
Tableau 11 : Potentiel aromatisant des houblons corses spontanés .....	77
Tableau 12 : Composition chimique des fractions volatils des houblons mis en culture .....	78
Tableau 13 : Composition chimique en volatils des tiges et feuilles de houblon .....	83
Tableau 14 : Composition du mélange ICE-3 (exprimée en g/100g de standard).....	87
Tableau 15 : Temps de rétention et transitions MRM des 10 standards enregistrés.....	88
Tableau 16 : Facteurs de réponse des composés à quantifier par CL-SM/SM.....	90
Tableau 17 : Choix du solvant d'extraction des $\alpha$ - et $\beta$ -acides .....	91
Tableau 18 : Optimisation de la durée et méthode de macération .....	92
Tableau 19 : Transitions MRM et temps de rétention des $\alpha/\beta$ -acides non usuels .....	94
Tableau 20 : Caractérisation chimique des extraits de houblons corses spontanés par CL-SM/SM .....	96
Tableau 21 : Rendements des macérations des houblons transplantés.....	98
Tableau 22 : Composition chimique des fractions lourdes des houblons transplantés ( $\mu\text{g/g}$ de cônes) .....	99
Tableau 23 : Ions fragments SM de la lupulone, de la colupulone et du NI de $m/z = 445,261$ .....	108
Tableau 24 : 34 composés identifiés dans le réseau moléculaire .....	110
Tableau 25 : Composition chimique des fractions lourdes des feuilles et tiges de houblon ( $\mu\text{g/g}$ de cônes) .....	113
Tableau 26 : Profil génétique des houblons corses spontanés et des cultivars transplantés en 2019... ..	116
Tableau 27 : Composés identifiés dans la bière Immortale après une MEPS .....	120
Tableau 28 : Composés identifiés dans la bière Immortale après une ELL (1/2).....	122
Tableau 29 : Description des échantillons de bière DryHopping/Ebullition .....	123
Tableau 30 : Influence du DryHopping sur la composition chimique volatile des bières ( $\text{ng}/200\text{mL}$ ) .....	124
Tableau 31 : Classification organoleptique des houblons de Corse .....	128
Tableau 32 : Les 22 composés de l'HACP .....	139
Tableau 33 : Exemple de composés odorants du houblon se retrouvant dans la bière <sup>144</sup> .....	140
Tableau 34 : Description morphologique de Tettnanger.....	183
Tableau 35 : Description morphologique de Smaragd.....	184
Tableau 36 : Description morphologique de Cascade.....	185

## Illustrations

Figure 1 : Rhizome de houblon .....	14
Figure 2 : Tige urticante de houblon .....	15
Figure 3 : Polymorphisme des feuilles de houblon.....	15
Figure 4 : Fleurs mâles de houblon .....	16
Figure 5 : Schéma d'une fleur femelle de houblon.....	16
Figure 6 : Recouvrement des fleurs femelles de houblon.....	16
Figure 7 : Akènes de houblon.....	17
Figure 8 : Localisation de la lupuline sur le cône .....	17
Figure 9 : Stades de croissance du houblon <sup>29</sup> .....	18
Figure 10 : Courbes de croissance des tiges primaires de houblon <sup>37</sup> .....	20
Figure 11 : Houblonnière en V.....	21
Figure 12 : Mildiou, Oïdium et Mosaïque du tabac sur des feuilles de houblon.....	21
Figure 13 : Glandes à lupuline .....	22
Figure 14 : Plantes hermaphrodites, monoïques et dioïques.....	23
Figure 15 : Polymorphisme des cultivars des bières Ribella <sup>44,45</sup> .....	25
Figure 16 : Arbre phylogénétique des cultivars de houblon <sup>48</sup> .....	26
Figure 17 : Schéma d'un triple quadripôle .....	28
Figure 18 : Structure chimique de la 8-prénylnaringénine.....	31
Figure 19 : Structures chimiques du xanthohumol et de l'isoxanthohumol .....	31
Figure 20 : Structure chimique du 4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one (4MMP) .....	32
Figure 21 : Structure chimique des $\alpha$ -acides et des $\beta$ -acides .....	33
Figure 22 : Isomérisation des $\alpha$ -acides .....	34
Figure 23 : Structures chimiques de la posthumulone, cohulupone et humulinone .....	34
Figure 24 : Photographie d'une houblonnière commerciale .....	35
Figure 25 : Stations localisées en Corse (gauche) et stations échantillonnées (droite) .....	37
Figure 26 : Pédologie de la Corse.....	37
Figure 27 : Échelle de grains, étude du sol.....	40
Figure 28 : Triangle des textures, granulométrie .....	41
Figure 29 : Équilibres M.O / C/N de la houblonnière est (haut) et ouest (bas) .....	43
Figure 30 : Teneurs en macro-éléments de la partie est de l'houblonnière .....	45
Figure 31 : Teneurs en oligo-éléments de la partie est de l'houblonnière.....	45
Figure 32 : Teneurs en macro-éléments de la partie ouest de l'houblonnière .....	45
Figure 33 : Teneurs en oligo-éléments de la partie ouest de l'houblonnière.....	46
Figure 34 : Préparation de l'houblonnière mars 2019 (gauche) et mai 2020 (droite).....	47
Figure 35 : Courbes de croissance des cultivars allemands 2019 .....	47
Figure 36 : Bilan climatique avril 2019 .....	48
Figure 37 : Bilan climatique mai 2019 .....	48
Figure 38 : Bilan climatique juin 2019 .....	49
Figure 39 : Bilan climatique juillet 2019.....	49
Figure 40 : Bilan climatique août 2019 .....	50
Figure 41 : Fleur femelle Cascade et pollen de houblon corse .....	51
Figure 42 : Akène de houblon contenu dans une bractée.....	52
Figure 43 : Liane de houblon .....	54
Figure 44 : 1cm <sup>2</sup> de la face abaxiale d'une feuille de houblon sauvage C42 .....	55
Figure 45 : Dendrogramme des caractères phénotypiques des houblons de Corse spontanés.....	59
Figure 46 : Comparaison de la pluviosité (mm) de plusieurs stations corses <sup>104,105</sup> .....	60

Figure 47 : Dendrogramme des caractères phénotypiques des houblons de Corse .....	62
Figure 48 : Précipitations et T°C (Tettngang) .....	64
Figure 49 : Précipitations et T°C (Patrimonio) .....	64
Figure 50 : Force des vents (Tettngang) .....	64
Figure 51 : Exposition solaire (Tettngang) .....	64
Figure 52 : Force des vents (Patrimonio) .....	65
<i>Figure 53 : Exposition solaire (Patrimonio) .....</i>	<i>65</i>
Figure 54 : Cônes de houblon et composés organoleptiques majoritaires.....	67
Figure 55 : Cercle des corrélations de l'ACP de la Figure 56.....	71
Figure 56 : ACP de la composition chimique en volatils des houblons de Corse spontanés.....	71
<i>Figure 57 : ACP de la composition chimique en volatils de tous les échantillons .....</i>	<i>74</i>
<i>Figure 58 : Cercle des corrélations de l'ACP en Figure 57.....</i>	<i>74</i>
<i>Figure 59 : Droite de régression linéaire des huiles essentielles .....</i>	<i>75</i>
<i>Figure 60 : PLS-DA des huiles essentielles.....</i>	<i>75</i>
Figure 61 : ACP des houblons spontanés en fonction des composés à fort impact organoleptique .	76
<i>Figure 62 : ACP de la fraction en volatils des houblons de Corse .....</i>	<i>80</i>
<i>Figure 63 : Cercle des corrélations de l'ACP en Figure 62.....</i>	<i>80</i>
Figure 64 : Dendrogramme des HE des houblons de Canale.....	81
Figure 65 : Dendrogramme des HE des houblons de Corte.....	81
Figure 66 : Dendrogramme des HE des cultivars commerciaux transplantés en Corse .....	82
Figure 67 : Spectres de masse de la lupulone (à gauche) et de l'adlupulone (à droite).....	88
Figure 68 : Chromatogramme du standard ICE-3 obtenu par CL-SM/SM .....	89
Figure 69 : Coubre de calibration en CL-SM/SM de l'adhumulone .....	90
Figure 70 : Chromatogramme obtenu par CL-SM/SM en « full-scan » (ionisation négative) .....	93
Figure 71 : Chromatogramme des $\alpha/\beta$ -acides non-usuels par CL-SM/SM (méthode ciblée).....	94
Figure 72 : ACP et cercle de corrélation des fractions lourdes des houblons corses spontanés .....	97
Figure 73 : ACP des fractions lourdes des houblons transplantés .....	101
Figure 74 : ACP des fractions lourdes de tous les échantillons .....	102
Figure 75 : Réseau moléculaire des fractions lourdes des cônes de houblon.....	104
Figure 76 : Spectre de masse de la lupulone dans Cascade V3.....	105
Figure 77 : Proposition de voie de fragmentation de la lupulone .....	105
Figure 78 : ion fragment à 359,286 .....	106
Figure 79 : Spectre de masse du nœud à $m/z = 413,31$ .....	107
Figure 80 : Voie de fragmentation proposée : lupulone A.....	107
<i>Figure 81 : De gauche à droite : lupulone, noyau « <math>\beta</math>-acide », colupulone .....</i>	<i>108</i>
Figure 82 : Pertes de <b>56</b> , <b>68</b> , <b>124</b> et <b>180</b> communes à la lupulone (gauche) et la colupulone (droite) .....	109
Figure 83 : Structure proposée pour le composé NI à $m/z = 445,261$ .....	110
Figure 84 : Réseau moléculaire complété (34 composés sur 90).....	112
Figure 85 : ACP des fractions lourdes des feuilles et tiges .....	114
Figure 86 : ACP des fractions lourdes des feuilles et tiges des houblons de 2020.....	115
Figure 87 : Dendrogramme de l'analyse génétique des houblons.....	117
Figure 88 : Fibre MEPS en cours d'extraction .....	119
Figure 89 : Schéma d'un Likens-Nickerson .....	121
Figure 90 : Extraction liquide/liquide.....	121
Figure 91 : Influence du DryHop sur les teneurs en composés volatils du houblon .....	125
Figure 92 : Représentation de l'Intelligence économique.....	129
Figure 93 : Chaîne de production de la bière.....	132

Figure 94 : Cueillette de houblon en Alsace (gravure sur bois, 1866) .....	133
Figure 95 : Machine à froid artificiel de Linde.....	134
Figure 96 : Premières brasseries industrielle et artisanale de Corse .....	134
Figure 97 : Structure chimique de la $\beta$ -ionone .....	136
Figure 98 : Schéma des voies olfactives.....	137
Figure 99 : Roues des arômes des cultivars étudiés.....	139
Figure 100 : Roue des arômes de la bière.....	142
Figure 101 : IBU moyen par style de bière.....	143
Figure 102 : Répartition en l'emploi en Corse selon les secteurs d'activité .....	144
Figure 103 : Nombre d'UTA en 2016 par secteur agricole.....	145
Figure 104 : Valeur vénale (€) des terrains agricoles en Corse.....	145
Figure 105 : Bilan annuel de l'emploi agricole en Corse en 2016 .....	146
Figure 106 : Les signes de qualité en Corse, hors bio et vins, en 2018.....	146
Figure 107 : Nombre de salariés dans les entreprises corses du secteur IAA .....	148
Figure 108 : Indicateurs économiques de l'activité agroalimentaire de Corse.....	148
Figure 109 : Répartition des secteurs d'activité des IAA en Corse <sup>154</sup> .....	149
Figure 110 : Secteur IAA en Corse (2009).....	150
Figure 111 : Bière Pietra sans gluten.....	151
Figure 112 : Exemples de bières « Ribella » aux ingrédients de Corse .....	152
Figure 113 : Bières des brasseries Monte Kyrie Eleison et Kiara.....	152
Figure 114 : Chiffres industrie/artisanat dans l'agroalimentaire.....	153
Figure 115 : Evolution du chiffre d'affaire par secteur d'activité.....	154
Figure 116 : Investissements en R&D en 2017 pour la préservation de l'environnement .....	155
Figure 117 : Superficie en mode de production biologique en Corse .....	157
Figure 118 : Croissance globale (zones grisées estimées) <sup>162</sup> .....	158
Figure 119 : Part des marchés globaux en récession <sup>162</sup> .....	158
Figure 120 : Influence de la Covid-19 sur les prix depuis janvier 2020 <sup>163</sup> .....	159
Figure 121 : Evolution des achats bio et locaux à Rouen (Source : SIREST).....	160
Figure 122 : Bières Ribella.....	161
Figure 123 : Préparation de la houblonnière mars 2019 (gauche) et mai 2020 (droite) .....	162
Figure 124 : Culture céréalière à Ajaccio avant 1960.....	163
Figure 125 : Festival Ribellazione encourageant le 100 % local .....	164
Figure 126 : Label BI.....	166
Figure 127 : Logo imaginé pour le label « Biera di Corsica » .....	167

# INTRODUCTION

Dans ces dernières décennies, à travers une économie locale et circulaire, une partie du monde brassicole s'est inscrit dans une démarche de respect de l'Environnement et d'utilisation de bioressources authentiques. Dans cette transition vers le 100% local, le houblon, ingrédient indispensable à la fabrication de la bière, demeure une matière première à fort potentiel culturel, économique et écologique. En Corse, cette ressource encore inexploitée pousse spontanément sur une grande part du territoire et sa valorisation serait un atout majeur à la consolidation de la typicité de la production brassicole insulaire et à l'émergence d'une nouvelle filière agricole à fort potentiel.

Le présent projet de Thèse associe la société RIBELLA et le projet structurant « Ressources Naturelles », partie intégrante de l'UMR CNRS SPE 6134 de l'Université de Corse. Ce partenariat public-privé s'inscrit dans une dynamique de valorisation de la recherche faite à l'Université de Corse et de transfert de compétences vers le territoire, d'une part, et du développement régional soutenable par la valorisation d'une Entreprise, d'autre part. Ainsi, c'est dans une optique de développement du terroir et des produits typiques que la brasserie Ribella élabore des bières agricoles dans le respect des normes biologiques. Son but à moyen terme est de brasser ses bières exclusivement avec des matières premières corses.

L'objectif de ce travail de Thèse est de caractériser morphologiquement et chimiquement les propriétés brassicoles des houblons de Corse. À cette fin, une stratégie d'échantillonnage optimisée et la construction de la première houblonnière de Corse seront mises en œuvre dans le but de déterminer la typicité des houblons insulaires et l'impact du terroir corse sur leurs différentes caractéristiques. Les trois grands axes de recherche seront donc les suivants :

- L'étude morphologique et phénotypique des houblons spontanés corrélée à une analyse pédoclimatique des stations de pousse.
- La caractérisation des potentiels aromatisants et amérisants des houblons de Corse par l'analyse spectrale et chromatographique des fractions volatiles d'une part, et des fractions lourdes d'autre part.
- La détermination de l'impact morphologique et phytochimique du terroir corse (i) sur la mise en culture des houblons spontanés et (ii) sur la transplantation de cultivars étrangers sur notre territoire.

Ces axes de recherche présentent un intérêt académique et/ou économique conséquent, autant pour l'Université et l'Entreprise que pour la Région, car ils pourraient conduire à la valorisation immédiate de cette ressource abondante encore inexploitée.



# CHAPITRE 1

## État de l'Art

### I. Botanique

#### A. Clés de détermination taxonomique du houblon

La famille botanique des *Cannabaceae* est constituée de deux genres se partageant certaines propriétés somnifères<sup>1,2</sup> : (i) le genre *Cannabis* qui ne contient qu'une seule espèce (*Cannabis sativa*<sup>3</sup>) et (ii) le genre *Humulus*. Celui-ci recouvre trois espèces : *H. lupulus*, *H. japonicus* (ou *scandens*) et *H. yunnanensis*, mais seule la première est cultivée dans le monde brassicole.

Le nom latin *Humulus lupulus* vient de *humus* signifiant « terre humide de bonne qualité » et de *lupulus* désignant un petit loup. Les romains pensaient que le houblon ne se développait que sur des sols purs et qu'il aspirait la vie des arbres sur lesquels il poussait<sup>4,5</sup>. En 1980, E. Small a classifié *H. lupulus* en plusieurs variétés taxonomiques<sup>6</sup>. En Europe, on ne retrouve que *H. lupulus* var. *lupulus* tandis que les variétés var. *neomexicanicus*, var. *pubescens* et var. *lupuloides* (ou *cordifolius*<sup>7</sup>) se développent au Japon et en Amérique du Nord. Les clés de détermination taxonomique sont données ci-après<sup>8</sup> :

1. Plantes dressées ; tiges sillonnées comportant de 0 à 5 crêtes ou ailes ; feuilles alternes ou opposées sur les parties basales des plantes, composées pennées ; tiges, rameaux et pétioles scabres mais sans poils pédonculés rigides à 2 branches ; inflorescences femelles dressées, non coniques.....**Cannabis**

2. Plantes volubiles ; tige constituée d'au moins 6 crêtes ou ailes ; feuilles opposées, palmées ou parfois simples ; tiges, rameaux et pétioles à poils pédonculés rigides à 2 branches ; inflorescences femelles pendantes, coniques .....**Humulus**

2a. Limbe abaxial sans poils spinuleux rigides sur les nervures. Limbe adaxial avec peu ou pas de poils cystolithiques sur feuilles jeunes. Au moins deux fleurs par bractée au cours de l'inflorescence .....**H. lupulus**

2b. Limbe abaxial avec des poils épineux rigides sur les nervures. Limbe adaxial avec des poils cystolithiques sur les jeunes feuilles. Une seule fleur par bractée.

2b1. Feuilles à 3 ou 5 lobes parfois simples, généralement densément pubescentes sur la face adaxiale. Infrutescences de 2 à 9 cm ; bractées et bractéoles de 1,5 à 3 cm, sans poils spinuleux.....**H. yunnanensis**

2b2. Feuilles à 3, 5, 7 ou 9 lobes, faiblement pubescentes sur la face adaxiale. Infrutescences de 0,5 à 2 cm ; bractées et bractéoles de moins de 1 cm, spinulosées.....**H. scandens**

Quatre variétés botaniques de houblon, à savoir *Humulus lupulus*, peuvent être caractérisées et identifiées de la manière suivante<sup>7</sup> :

1. Limbe généralement avec moins de 20 poils par cm sur la longueur de la nervure médiane, moins de 25 glandes par 10 mm<sup>2</sup> entre les nervures ; nœuds à pubescence limitée, généralement moins de 15 poils par 0,1 mm<sup>2</sup> au maximum de la partie pubescente (à l'exclusion de l'angle du pétiole avec la tige) .....**var. lupulus**

2. Limbe généralement avec plus de 20 poils par cm sur la longueur de la nervure médiane, plus de 25 glandes par cm<sup>2</sup> entre les nervures ; nœuds relativement pubescents, généralement plus de 15 poils par 0,1 mm<sup>2</sup> au maximum de la partie pubescente (à l'exclusion de l'angle du pétiole avec la tige).

2a. Limbe de 10 cm ou plus ayant habituellement au moins 5 lobes ; lames plus petites (environ 5 cm) avec plus de 3 nervures facilement visibles se ramifiant sur la nervure médiane (à l'exclusion des branches proximales) .....**var. neomexicanus**

2b. Limbe de 10 cm ou plus ayant généralement moins de 5 lobes ; lames plus petites (environ 5 cm) avec 3 nervures ou moins facilement visibles se ramifiant sur la nervure médiane (à l'exclusion des branches proximales).

2b1. Limbe nettement pubescent sur la face abaxiale, plus de 100 poils par cm<sup>2</sup> sur la longueur de la nervure médiane, présents entre les nervures.....**var. pubescens**

2b2. Limbe pas ou peu pubescent sur la face abaxiale, généralement moins de 100 poils par cm<sup>2</sup> sur la longueur de la nervure médiane, poils souvent absents entre les nervures.....**var. lupuloides**

## B. Description botanique de *Humulus lupulus*

La variété européenne *H. lupulus* est considérée comme différente de toutes les autres sur les points morphologique et génétique<sup>9,10</sup>. *H. lupulus* est une liane grimpante herbacée poussant dans toutes les régions tempérées jusqu'à 1500m d'altitude<sup>11,12</sup>. Généralement, elle préfère les sols légèrement calcaires et une exposition solaire moyenne à forte. Dans ses premiers mois de pousse, la liane est sensible aux vents forts et se brise facilement.

Prolongeant des racines profondes (jusqu'à 4 mètres), la souche ligneuse du houblon est probablement sa partie la plus essentielle, car elle assure la pérennité de la plante<sup>13</sup>(Figure 1). Elle mesure 30 à 40cm de long. Elle est composée de deux systèmes racinaires. Le premier, permanent, comprend un organe d'absorption des minéraux ainsi qu'un organe de réserve qui s'activent durant la phase hivernale. Le second, annuel, n'apparaît qu'en été. Il est constitué d'un complexe de racines superficielles assurant la bonne alimentation du végétal durant les saisons sèches et disparaissant après l'automne<sup>14</sup>.



*Figure 1 : Rhizome de houblon*

La souche engendre de nombreuses tiges urticantes hexagonales et tapissées de crochets assurant leur fixation sur un support (Figure 2). Elles sont robustes, ce qui leur donne la capacité de supporter le poids d'un végétal pouvant atteindre plusieurs mètres. Elles sont dextrogyres, car elles s'enroulent autour de leur support dans le sens horaire. Dans un premier temps, blanches, ces tiges finissent par se colorer en différentes nuances de vert et de rouge. Elles sont creuses, sauf au niveau des entrenoeuds<sup>15</sup>.



Figure 2 : Tige urticante de houblon

Les feuilles du houblon sont opposées, diversement lobées et ressemblent grandement à celles des vignes, bien qu'elles soient particulièrement rêches au toucher (Figure 3). Selon l'état de croissance de la plante et son exposition solaire, elles peuvent être entières, trilobées, à cinq lobes ou à sept lobes ; ce polymorphisme peut survenir simultanément sur un même pied. Les feuilles heptalobées sont cependant assez rares. Selon la saison et le cultivar, et hors éventuels problèmes de santé, la coloration des feuilles varie du jaunâtre au vert foncé<sup>16</sup>.



Figure 3 : Polymorphisme des feuilles de houblon

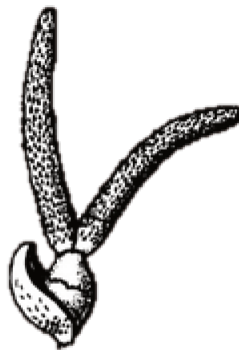
*Humulus lupulus* est une espèce dioïque, ce qui signifie que ses organes de reproduction mâles et femelles sont situés sur deux pieds distincts. Néanmoins, cette dioïcité n'est pas absolue en ce sens que dans la nature, certains pieds peuvent changer de sexe d'une année à l'autre ou bien porter des fleurs staminées et pistillées en même temps<sup>14</sup>. Ces fleurs apparaissent à l'aisselle des feuilles au début du mois de juin et disparaissent à la fin du mois de juillet<sup>17</sup>.

Les inflorescences mâles forment des grappes composées (panicules) et se réduisent à 5 sépales et 5 étamines dressées. Lorsque la fleur s'ouvre (Figure 4), les sacs staminaux libèrent le pollen qui est ensuite disséminé par le vent<sup>18</sup> (plante anémophile). Ces fleurs dépérissent ensuite rapidement.



*Figure 4 : Fleurs mâles de houblon*

Les fleurs femelles se présentent sous forme d'inflorescences composées portées sur des branches provenant directement de l'aisselle des feuilles de la tige principale elle-même, ou de l'aisselle des feuilles sur les pousses latérales produites par la tige principale. Chaque fleur femelle simple se compose d'un périanthe en calice, entourant partiellement l'ovaire qui contient un seul ovule et qui est surmonté de deux longs stigmates<sup>19</sup> (Figure 5). Ces fleurs apparaissent entre juin et juillet.



*Figure 5 : Schéma d'une fleur femelle de houblon*

Après la chute des stigmates, une croissance rapide des bractées du strobile donne naissance à la forme de cône (chaton) de l'inflorescence mature. Ces bractées sont de grandes écailles membraneuses se recouvrant les unes les autres. Les photographies ci-dessous illustrent les différentes étapes de recouvrement progressif des fleurs par les bractées du chaton (Figure 6).



*Figure 6 : Recouvrement des fleurs femelles de houblon*

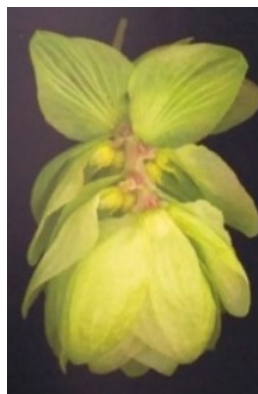
Une fois les cônes refermés, les ovules fécondés donnent un fruit tandis que les ovules non fécondés dépérissent. Ces cônes, bien que grossièrement arrondis, possèdent en réalité quatre angles et quatre faces planes. Les bractées situées sur les angles, souvent plus vertes, ne portent pas de fruits, tandis que celles situées sur les faces planes portent les akènes et sont souvent plus jaunâtres<sup>20</sup>.

Le fruit est un akène lisse (Figure 7) qui conserve sa tunique de sépales ; il est rarement rencontré dans les cultures, car on éloigne les pieds femelles des pieds mâles afin d'éviter la fécondation. Le taux de germination de ces akènes est connu comme étant très faible, mais leur grand nombre (une dizaine par cône) permet au végétal de se multiplier efficacement<sup>21</sup>.



*Figure 7 : Akènes de houblon*

Les inflorescences femelles et les fruits sont saupoudrés de grains jaunes odorants et amers appelés « glandes à lupuline » (Figure 8) en rapport à la substance qu'ils contiennent. La lupuline est sécrétée par les cônes (exclusivement sur les pieds femelles) à des fins défensives et curatives<sup>3,22-24</sup>. Ce métabolome est composé de nombreuses molécules prénylées possédant des activités antibactériennes et antifongiques<sup>25-27</sup>.



*Figure 8 : Localisation de la lupuline sur le cône*

Dans le domaine brassicole, c'est justement cette lupuline qui est recherchée dans le but d'aromatiser et d'amériser les bières. Afin d'avoir un contrôle sur la sécrétion de cette résine, le houblon doit être cultivé dans des conditions très particulières.

## C. Culture

Préalablement à la mise en culture du houblon, il est nécessaire de connaître son cycle de croissance (Figure 9). Celui-ci s'organise en trois phases : (i) phase végétative, (ii) -de fructification et (iii) -de repos hivernal. Durant la phase végétative, entre avril et juin, la tige primaire débute son étape d'élongation et produit de nombreuses ramifications. Cette élongation en hauteur assure aux feuilles la meilleure exposition solaire et donc une photosynthèse moins perturbée<sup>21</sup>. Lors de cette étape, il est d'usage de sélectionner deux à trois tiges primaires et d'éliminer les autres afin d'assurer au végétal une croissance verticale importante et limiter le couvert de feuillage propice à un développement fongique<sup>28</sup>.

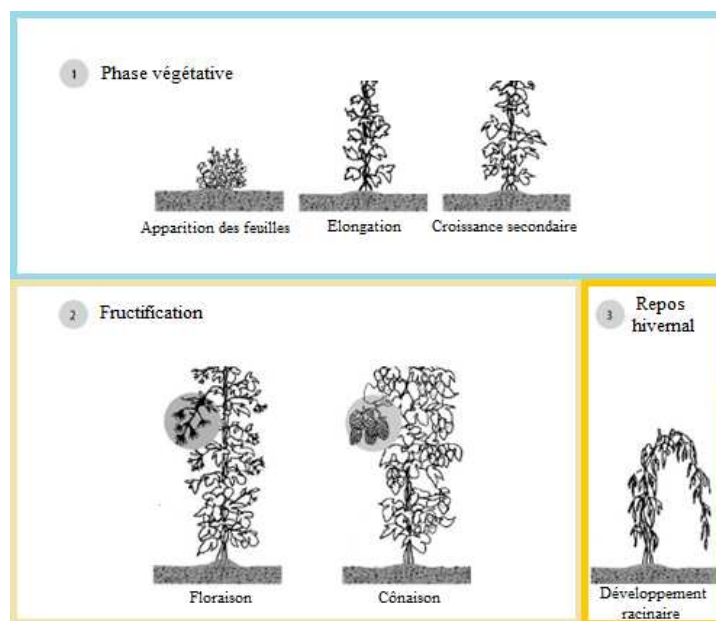


Figure 9 : Stades de croissance du houblon<sup>29</sup>

La phase de fructification commence au début du mois de juin avec l'apparition des premières fleurs. Les fleurs femelles (fécondées ou non) s'enferment dans des cônes qui fabriquent ensuite des glandes à lupuline. En culture, les pieds mâles et femelles sont séparés afin d'éviter la pollinisation, car la fructification est connue comme appauvrissant plus rapidement les sols et limitant les teneurs en lupuline, substance d'intérêt dans le monde brassicole<sup>20</sup>.

Enfin, le houblon entre dans la dernière étape de son cycle annuel, la phase de repos hivernal, durant laquelle son système racinaire persistant reconstitue ses réserves minérales<sup>16</sup>.

Avant sa première phase végétative, le houblon se plante sur un terrain ensoleillé et sur un sol légèrement sablonneux. La pente et les vents ne doivent pas être trop importants. Afin

d'optimiser sa croissance, il a besoin de 120 jours sans gel et d'une température moyenne supérieure à 15°C entre mai et août. Le sol doit avoir un pH entre 5,7 et 7,5 et doit être bien drainé pour éviter le développement fongique<sup>30</sup>. Les besoins en eau du houblon sont relativement élevés<sup>21,31</sup>.

Le houblon peut être mis en culture par semis comme par bouturage. Cependant, de la première méthode consistant à semer des graines issues d'une fécondation, résultera l'obtention de nouvelles pousses présentant un code génétique variable, différent de celui du plant mère<sup>32,33</sup>. Dans le milieu brassicole, les agriculteurs cherchent, au contraire, à conserver le même code génétique que la génération précédente pour des raisons, notamment, de reproductibilité des bières. Pour cela, la méthode la plus utilisée demeure la bouture. Le bouturage du houblon se fait en avril ou en octobre<sup>34</sup>. L'implantation privilégiée des agriculteurs est le rhizome qui est enfoncé horizontalement à 20 cm dans le sol. Contrairement aux plants, les rhizomes prendront plus de temps à développer des cônes et seront plus vulnérables aux maladies durant les premières semaines suivant leur implantation. Néanmoins, ils sont moins coûteux et plus résistants aux longs trajets hors-sol<sup>35</sup>.

La croissance du houblon dépend de nombreux facteurs tels que la localisation, le cultivar et les conditions climatiques<sup>36</sup>. Dans la Figure 10 sont montrées des courbes de croissance des tiges primaires d'un même cultivar de houblon (Fuggle) au cours de cinq années consécutives. Il apparaît que le début de la croissance et la vitesse de pousse varient selon les années. Pour une année donnée, ces valeurs changent également au cours d'un même mois. Il a été prouvé que ces variations sont effectivement dues à des changements soudain des conditions climatiques : de température, de précipitations, d'expositions solaire et éolienne, ainsi qu'à de nombreux autres facteurs<sup>37</sup>.



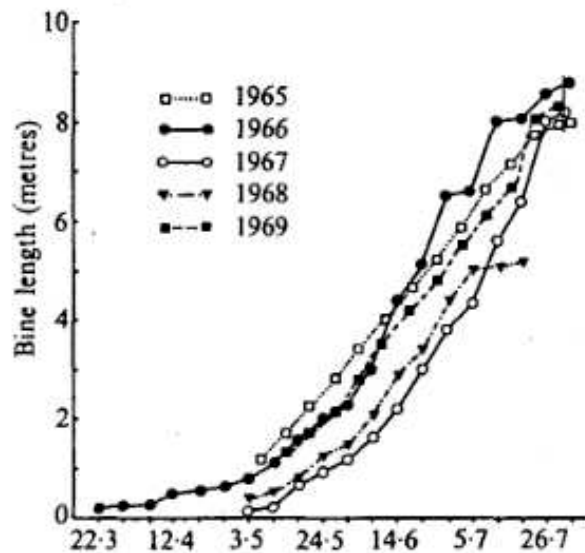


Figure 10 : Courbes de croissance des tiges primaires de houblon<sup>37</sup>

Au cours du temps, le système de culture du houblon a beaucoup évolué. En 1797, il consistait à faire grimper les tiges le long de troncs de peupliers de manière à imiter leur comportement à l'état spontané. L'houblonnière est alors désordonnée et la récolte est rendue difficile. Rapidement, les arbres sont remplacés par des perches amovibles de 8 m de haut qui facilitent la récolte et sont retirées chaque hiver. Ce n'est qu'au début du XX<sup>e</sup> siècle qu'apparaissent les premières houblonnières permanentes. De très nombreux poteaux en bois sont alors fixés à des dalles en pierre et reliés par des fils de fer à leur sommet. Des fils tuteurs y sont suspendus au-dessus de chaque plant de houblon. De cette manière, le houblon peut atteindre de grandes hauteurs. En 1963, ce système est perfectionné par l'enfoncement des poteaux à plusieurs mètres de profondeur dans le sol. Les dalles en pierre ne sont alors plus indispensables. Le nombre de poteaux nécessaires est drastiquement réduit et l'accessibilité pour les agriculteurs est augmentée. Le fil de fer est très largement renforcé et tendu de manière à résister aux vents et à la gravité<sup>38</sup>.

Selon les régions et les expositions au vent, on peut trouver des houblonnières traditionnelles allant de 6 à 8 m de hauteur, comme des houblonnières dites basses de moins de 4 mètres. Afin d'augmenter l'exposition solaire des feuilles et faciliter l'accroche des tiges primaires, les fils tuteurs sont inclinés en V, comme illustré ci-après (Figure 11).



Figure 11 : Houblonnière en V

Le houblon, comme de nombreux végétaux, est sensible à plusieurs parasites et/ou maladies (Figure 12). C'est le cas du mildiou (*Pseudoperonospora humuli*), de l'oïdium (*Sphaerotheca humuli*) et du virus de la mosaïque du tabac (*Tobacco mosaic virus*) qui causent des ravages dans les houblonnières. En général, leur développement est facilité par l'humidité stagnante, les vents et la proximité entre les plants<sup>29</sup>.



Figure 12 : Mildiou, Oïdium et Mosaïque du tabac sur des feuilles de houblon

Bien que l'on rencontre encore fréquemment ces parasites, les sélections génétiques réalisées depuis près de deux siècles sur les « variétés commerciales » (ou cultivars) de houblon tendent à augmenter leur résistance et ainsi à limiter le développement de ces champignons et virus. Certains cultivars, comme « Cascade », sont réputés pour être particulièrement résistants à ces attaques<sup>39</sup>.

Une fois la pousse du végétal optimale, les cônes des houblons femelles doivent être récoltés au plus vite. Selon les cultivars, la récolte ne doit pas se faire au même moment. Dans tous les cas, un cône est considéré à maturité lorsque son taux d'humidité exprimé par la formule ci-après décroît de 20 %.

$$TH = \frac{m_s}{m_f} \times 100$$

Où TH est le taux d'humidité,  $m_s$  la masse du cônes sec et  $m_f$  la masse du cône frais

La récolte doit se faire entre fin-juillet et début-septembre, au moment opportun. Il est crucial de récolter les cônes à leur maturité afin d'éviter des pertes d' $\alpha$ -acides et de composés aromatiques. Qu'il pousse à l'état spontané ou en culture, le houblon doit être cueilli lorsque ses cônes arrêtent de dégager une odeur de foin ou de gazon et libèrent des odeurs de pomme ou de poire<sup>21</sup>. Visuellement, les cônes perdent leur teinte verdâtre pour tendre vers le doré. La lupuline jaunit davantage. Afin de s'assurer de leur maturité, il est préférable d'observer le développement des glandes à lupuline à la loupe binoculaire, voire par microscopie optique ou électronique (Figure 13).

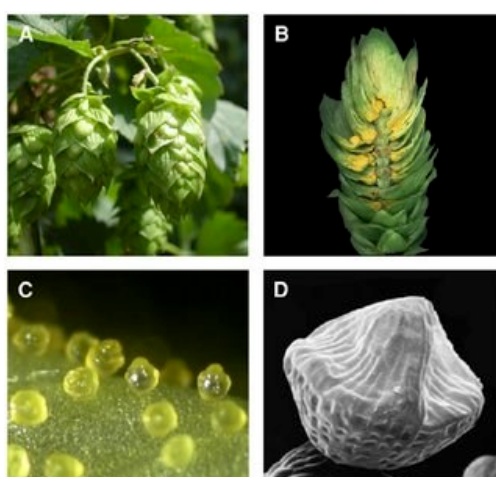


Figure 13 : Glandes à lupuline

Une récolte tardive entraîne le dessèchement des cônes et la perte de la majorité des composés volatils. *À contrario*, une récolte trop précoce ne laisse pas le temps aux glandes à lupuline de se développer et donne un houblon peu amer, plus ou moins dépourvu d' $\alpha$ - et  $\beta$ -acides. Dans tous les cas, la récolte doit se faire en l'absence de vent et plusieurs jours après la pluie afin d'éviter des développements bactériens et/ou fongiques.

La récolte peut s'effectuer manuellement. Depuis 1955, les cultivateurs de houblon ont largement marqué leur préférence pour une mécanisation. Toute la liane est récoltée, bien que seuls les cônes soient utilisés dans la confection de la bière. La tige, les feuilles et les fils tuteurs sont broyés. Dans le meilleur des cas, ils sont utilisés comme engrais, à défaut ils sont jetés. À notre connaissance, il n'existe pour le moment aucune voie usuelle de valorisation des drêches. Une fois les cônes nettoyés, ils sont séchés, puis dans certains cas pressés en pellets afin de faciliter leur stockage et leur transport<sup>14,31,34,35</sup>.

Plusieurs critères déterminent si un houblon est de bonne ou de mauvaise qualité. Parmi eux, la couleur des cônes, la couleur de la lupuline, le degré d'effeuillement et le nombre de rameaux secondaires sont à souligner. Cependant, pour un produit destiné à être consommé, il est logique que le critère le plus important soit sa saveur<sup>14</sup>.

#### D. Hybridation

Un hybride est un organisme issu du croisement de deux individus relevant de cultivars, variétés, sous-espèces, espèces ou genres différents. L'hybride présente un mélange des caractéristiques génétiques des deux parents<sup>40</sup>. L'hybridation peut être naturelle ou forcée. Dans le second cas, une pollinisation artificielle doit être réalisée entre les deux parents. Le houblon est une espèce dioïque (Figure 14). Dans l'agriculture brassicole, seuls les houblons femelles sont utilisés. Afin de contrôler la pollinisation de ces pieds, le lieu de culture doit être éloigné de tout houblon mâle, sauvage ou cultivé.

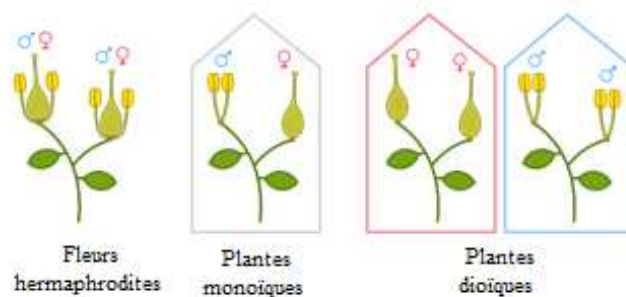


Figure 14 : Plantes hermaphrodites, monoïques et dioïques

Lorsque les fleurs mâles s'ouvrent, entre début juillet et fin août selon les cultivars et les conditions climatiques, le pollen doit être récolté et conservé dans une boîte hermétique et les fleurs femelles (toujours fermées) doivent être isolées. Le pollen de houblon est extrêmement volatil et doit donc être manipulé avec précaution afin d'éviter une pollinisation non désirée. Quelques jours ou semaines après, les fleurs femelles s'ouvrent à leur tour. Le sachet permettant l'isolement de la fleur doit être retiré et la pollinisation manuelle doit être réalisée le plus rapidement possible. La meilleure manière de polliniser manuellement un houblon est de déposer le pollen directement sur les pistils. Cette manœuvre doit se faire délicatement, car les fleurs sont fragiles. Par la suite, il est préférable de les isoler à nouveau. Répéter l'opération augmente grandement les chances de fécondation<sup>41</sup>. Plusieurs fruits (akènes) apparaissent alors à l'intérieur des cônes. Ces fruits présentent un code génétique hybride. Une fois germés, ils pourront donner des pieds hybrides.

L'intérêt de l'hybridation du houblon est de rendre un cultivar plus résistant aux maladies et difficultés climatiques. De plus, elle a souvent pour but d'augmenter les rendements en huile essentielle et composés amérisants.

### E. « Variétés commerciales » ou cultivars

En plus des variétés au sens botanique du terme, les critères tels que la localisation et les sélections génétiques ont donné lieu à des appellations contrôlées, nommées « variétés commerciales » ou cultivars<sup>6,39,42</sup>. À titre d'exemple, « Brewers Gold », mis en culture en 1917, a été créé en fécondant un houblon spontané canadien avec des pollens de houblons cultivés en Grande-Bretagne. « Brewers Gold », toujours commercialisé aujourd'hui, est le lointain parent de très nombreux cultivars comme « Chinook » et « Magnum »<sup>39</sup>. « Cascade », quant à lui, est l'un des cultivars les plus commercialisés au monde<sup>43</sup>. Les houblons commerciaux utilisés dans la fabrication des bières Ribella sont présentés dans l'extrait d'herbier à la Figure 15 ; ils seront étudiés au cours de ce travail en parallèle au houblon de Corse. Les croisements réalisés sur ces houblons sont le fruit de sélections génétiques sur plusieurs générations dont le but est l'obtention de propriétés organoleptiques singulières. Ces sélections génétiques ont conduit à une différenciation au niveau morphologique. La surface cultivée en 2018 pour chacun de ces cultivars est donnée en hectares.





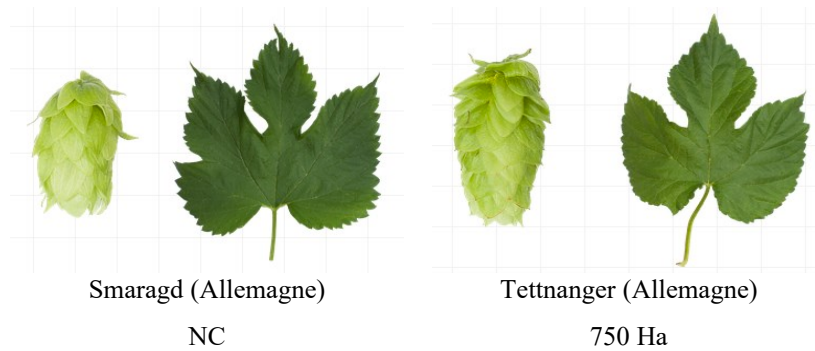


Figure 15 : Polymorphisme des cultivars des bières Ribella<sup>44,45</sup>

Parmi les quelques deux cents cultivars existants, aucun n'était cultivé en Corse avant le début de nos travaux doctoraux. Chaque houblon présente des particularités organoleptiques qui lui sont propres, mais certains peuvent être regroupés en fonction d'une même typicité aromatique ; c'est notamment le cas des houblons dits « nobles » qui sont des cultivars européens caractérisés par leurs faibles taux en  $\alpha$ -acides et leurs qualités aromatiques subtiles. Il en existe cinq, dont trois utilisés dans les bières Ribella : Hallertau mfr, Saaz, Tettninger, Spalt et Smaragd. De manière générale, ces houblons sont très appréciés pour la confection de *lagers* florales peu amères<sup>46</sup>.

Avant ce travail, aucune étude morphologique ou chimique n'avait été menée sur le houblon de Corse.

## II. Différenciation génétique

Jusqu'à la moitié du XX<sup>e</sup> siècle, les houblons les plus utilisés (Opal, Smaragd, Saaz, Tettninger, etc.) étaient obtenus par sélection, puis par hybridation des cultivars européens et des pieds spontanés de cette même origine. Ces houblons sont toujours reconnus, à ce jour, comme présentant un profil aromatique extrêmement riche et sont recherchés par les brasseurs. Dès la seconde moitié du XX<sup>e</sup> siècle, des hybridations avec des houblons poussant spontanément en Amérique du Nord ont été réalisées pour renforcer les variations génétiques, le potentiel amérisant et les résistances contre les pathogènes<sup>28</sup>. Cependant, malgré l'amélioration des résistances et de l'amérisation, ces hybridations découlant toutes des mêmes sources européennes (Brewers Gold, notamment) ont, au contraire, conduit à un appauvrissement génétique. Pour pallier cette dégénérescence, les cultivateurs se tournent, aujourd'hui, vers des hybridations entre ces cultivars américano-européens (Magnum, Chinook, Cascade, etc.) et des souches poussant spontanément en Europe<sup>47</sup>.

La Figure 16 est un arbre phylogénétique des cultivars les plus usités. Il y est montré une grande différenciation entre les houblons européens (I, II et III) et nord-américains (VI, VII et VIII)<sup>48</sup>.



Figure 16 : Arbre phylogénétique des cultivars de houblon<sup>48</sup>

### III. Composition chimique du houblon

#### A. Méthodologie d'analyse

##### 1. Fraction volatile

Les composés volatils d'une Plante à Parfum, Aromatique et Médicinale (PPAM) se retrouvent généralement dans son huile essentielle (HE). Celle-ci est un mélange complexe constitué de plusieurs dizaines de composés principalement terpéniques. Les terpènes, molécules construites à partir d'entités isopréniques, constituent une famille très diversifiée, tant au niveau structural qu'au niveau fonctionnel. Dans les huiles essentielles de houblon, on rencontre généralement des monoterpènes et des sesquiterpènes. Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles des différents cultivars de houblon est nécessaire pour l'expression de leur potentiel aromatique. Dans la majorité des cas, une huile essentielle est analysée immédiatement après avoir été séparée du végétal.

Parmi toutes les méthodes de caractérisation des huiles essentielles, la Chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la méthode conventionnelle, c'est-à-dire la méthode reconnue par les professionnels du secteur<sup>49,50</sup>. Pour cette raison, l'immense majorité des études réalisées sur les HE de houblon est faite par l'une des techniques de la CPG<sup>42,51-58</sup>.

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage, sans décomposition<sup>50</sup>. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du microgramme.

- la chromatographie en phase gazeuse associée à une détection par ionisation de flamme (CPG-DIF) permet de caractériser chaque constituant par des indices de rétention (Ir) calculés à partir d'une gamme d'alcanes à température constante ou en programmation de température.
- la chromatographie en phase gazeuse couplée en ligne à la spectrométrie de masse (CPG-SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. Il existe deux modes d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Le premier mode est le plus largement utilisé.



Les indices de rétention polaires ( $I_r p$ ) et apolaires ( $I_r a$ ) ainsi que les spectres de masse des constituants individualisés sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans des bases de données de référence élaborées au laboratoire, dans des bibliothèques commerciales ou répertoriés dans la littérature.

Cependant, lorsque les mélanges sont trop complexes, il est préférable, au préalable, de réaliser une étape de fractionnement. Lorsqu'un composé ayant une teneur significative est inconnu des bibliothèques de comparaison et qu'il n'est pas décrit dans la littérature, il faut le purifier par fractionnements successifs autant que faire se peut, puis aboutir à son identification structurale par une étude en Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

## 2. Fraction lourde

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM) est la technique la plus performante pour l'identification et la caractérisation des composés phénoliques, notamment dans les extraits végétaux<sup>59-61</sup>. La structure d'un spectromètre de masse en tandem est donnée dans la Figure 17 : le triple quadripôle résulte de l'association de deux analyseurs quadripolaires en série (Q1 et Q3), séparés par une cellule de collision (q2). La CL-SM/SM consiste en la sélection d'un ion par une première spectrométrie de masse (Q1), en sa fragmentation dans la cellule de collision (q2), puis en la réalisation d'une seconde spectrométrie de masse sur les fragments ainsi générés (Q3). Ce type de couplage a largement remplacé la CL-SM en raison de sa plus grande sensibilité, sa meilleure sélectivité et l'acquisition de plus amples informations concernant les voies de fragmentations<sup>60</sup>.

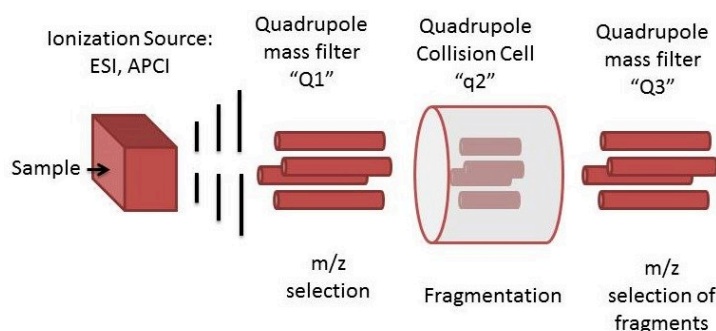


Figure 17 : Schéma d'un triple quadripôle

La métabolomique est une méthode qui vise à analyser le phénotype métabolique d'un système biologique, c'est-à-dire à étudier les molécules qui le composent, mais également leurs rôles fonctionnels<sup>62-64</sup>. Lors d'une approche ciblée, les données obtenues sont comparées à celles de bibliothèques de composés standards ; ce processus vise à recenser au sein de mélanges

complexes une ou plusieurs molécules déjà connues et référencées. Les données ainsi obtenues pour chacun des métabolites permettent d'établir des schémas de fragmentation spécifiques à chaque classe chimique. Lors d'une approche métabolomique non ciblée, il s'agit d'obtenir de plus amples informations sur la composition d'une matrice complexe par la détection de composés appartenant à diverses familles chimiques ; on parle, alors, de profilage métabolomique. Enfin, le traitement statistique permet d'obtenir l'empreinte métabolomique des échantillons sans identification préalable des constituants.

Suivant l'information recherchée, l'analyse en tandem (SM/SM) peut être menée selon quatre modes. Parmi ceux-ci, le mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) est particulièrement adapté à une analyse ciblée par l'observation d'une ou plusieurs transitions « ions parents / ions fils ». Aujourd'hui, c'est la technique de choix pour la quantification par étalonnage interne des molécules présentes dans un extrait végétal<sup>65</sup>. Il est à relever que peu d'études approfondies ont été réalisées sur la quantification des métabolites secondaires présents dans les extraits de houblon<sup>60,65,66</sup>.

## B. Caractérisation chimique

### 1. Les composés des huiles essentielles

En 1905, Alfred Chapman a identifié les trois premiers composés de l'huile essentielle d'un houblon à savoir le myrcène, l'humulène et le linalol. En l'absence de CPG-SM qui n'a vu le jour que cinquante ans plus tard, il a dû procéder par fractionnements successifs de l'huile essentielle jusqu'à obtenir un unique composé dans chaque fraction, dont les propriétés physico-chimiques ont été comparées à celles de terpènes au profil connu. Dès lors, il savait que ces trois composés ne sont pas les uniques constituants de l'huile essentielle du Houblon car leur profil organoleptique ne suffit pas à expliquer les différences olfactives que l'on peut trouver entre différents cultivars. À ce sujet, il affirmait que « personne ne peut confondre l'odeur des houblons californiens et bavarois [...] malgré leurs teneurs similaires en myrcène, humulène et linalol ; ces différences sont en réalité induites par les composés minoritaires »<sup>67</sup>.

De nombreuses études ont, ensuite, concerné la composition chimique des houblons. De manière générale, les houblons dits « aromatisants » possèdent une grande quantité d'huile essentielle. Cependant, selon les cultivars, les profils chimiques peuvent être différents. En effet, les composés tels que le myrcène, l' $\alpha$ -sélinène, le  $\beta$ -sélinène, le (E)- $\beta$ -caryophyllène, le  $\beta$ -farnésène et l' $\alpha$ -humulène sont les constituants les plus fréquemment trouvés dans les huiles essentielles. Toutefois leurs teneurs varient en fonction des cultivars<sup>68</sup> ; le Tableau 1 regroupe

les résultats de différents travaux, présents dans la littérature, réalisés sur les huiles essentielles des houblons commerciaux.

*Tableau 1 : Caractérisation chimique des huiles essentielles des cultivars commerciaux de houblon par CPG-SM (%) <sup>42,52-56,58</sup>*

Composés	Saaz	Hallertau	Yakima	Brewers Gold	Cascade	Willamette	Magnum
β-Pinène	1,1	0,5	1,1	0,8	1,5	0,5	12,1
Myrcène	15,4	24,1	52,0	51,4	48,9	39,8	53,2
Limonène	1,0	0,2	0,5	-	1,1	0,6	2,1
(E)-β-Ocimène	0,1	0,1	0,6	-	0,2	-	1,2
Linalol	1,9	0,5	0,2	0,4	1,3	1,0	1,9
Undécane-2-one	4,4	0,6	0,2	-	0,2	0,1	-
Déc-4-énoate de méthyle	4,9	0,3	0,9	1,8	0,8	0,4	0,8
α-Ylangène	0,1	0,2	0,2	-	0,1	0,1	-
α-Copaène	0,4	0,6	0,3	-	0,3	0,3	-
(E)-β-Caryophyllène	5,4	15,3	9,7	7,1	6,7	8,8	6,7
β-Farnésène	8,0	-	-	-	4,4	-	-
α-Humulène	21,7	43,4	20,6	18,9	14,0	36,2	-
γ-Muuroène	0,7	1,9	0,6	-	-	0,6	0,4
Germacrène D	0,5	1,0	0,8	-	-	-	0,4
Tridécan-2-one	1,9	0,4	0,3	0,3	-	-	-
β-Sélinène	0,3	-	-	0,8	1,2	0,3	-
α-Sélinène	-	-	0,9	0,7	1,8	-	0,1
α-Muuroène	0,4	0,9	-	-	0,5	0,3	-
δ-Cadinène	1,4	3,7	1,5	0,9	1,5	1,6	0,8
τ-Cadinol	0,7	0,2	-	-	0,2	0,2	-
Hydrocarbonés	56,5	91,9	88,8	80,6	82,2	89,1	77
Oxygénés	13,8	2	1,6	2,5	2,5	1,7	2,7
Pourcentage d'identification	70,3	93,9	90,4	83,1	84,7	90,8	79,7
Rendement d'huile essentielle	2,2	1,8	2,2	1,6	1,4	0,9	1,5

## 2. Les composés de la fraction lourde

### a. Le Xanthohumol et les polyphénols

Les polyphénols contribuent également aux caractéristiques organoleptiques du houblon. Parmi les flavonoïdes identifiés, l'isoxanthohumol, la 8-prénylnaringénine et la 6-prénylnaringénine sont retrouvés systématiquement dans les divers cultivars de houblons. Les prénylnaringénines sont réputées pour leurs activités œstrogéniques<sup>69</sup>. Certains flavonoïdes glycosylés comme le kaempférol-3-O-glucoside sont également présents dans la plante ; ces

hétérosides de flavonol sont connus pour leurs propriétés organoleptiques<sup>70</sup>. La 8-prénylnaringénine (Figure 18) peut être produite par des champignons à partir de l'isoxanthohumol<sup>71</sup>. Le rôle des composés prénylés dans la résistance aux pathogènes, aux herbivores et aux stress environnementaux chez les végétaux a déjà été confirmé<sup>72</sup>.

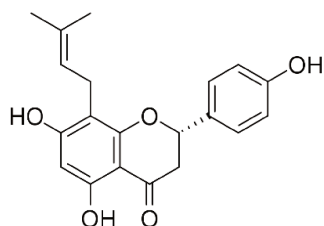


Figure 18 : Structure chimique de la 8-prénylnaringénine

Des chalcones (Figure 19), telles que le xanthohumol, ont une particularité double : outre leurs propriétés amérisantes et aromatisantes, elles possèdent (i) des activités antioxydantes qui en font d'excellents conservateurs naturels pour la bière<sup>22</sup> et (ii) des activités anticancéreuses<sup>73</sup>. La voie de biosynthèse du xanthohumol est similaire à celle des anthocyanes, malgré l'absence de ces derniers dans les cônes de houblon. En réalité, la biosynthèse du xanthohumol se fait au dépend de celle des anthocyanes par l'action du gène HIWRKY1, considéré comme essentiel au végétal pour la régulation en lupuline protectrice<sup>74</sup>. La teneur en xanthohumol est un facteur de qualité important des houblons. Au cours du brassage, en raison de la chaleur, le xanthohumol subit un changement de conformation. L'isoxanthohumol ainsi obtenu est un phytoœstrogène, c'est une flavanone prénylée.



Figure 19 : Structures chimiques du xanthohumol et de l'isoxanthohumol

#### b. Les composés soufrés

Les terpènes sont connus comme étant les molécules les plus odorantes dans le houblon. Cependant, l'impact important des composés soufrés sur le potentiel aromatique du houblon a récemment été mis en lumière<sup>75-77</sup>. Les thiols peuvent apporter un arôme de fruit tropical, de raisin, de fromage ou d'oignon (considéré comme déplaisant)<sup>78,79</sup>. Ils sont connus pour leur arôme particulièrement marqué et parfois très désagréable. De la même manière que les

terpènes, les composés soufrés du houblon ne se retrouvent dans la bière que lorsqu'ils sont tardivement ajoutés au brassage, voire après l'ébullition (houblonnage à froid ou *dry-hopping*).

Parmi les composés soufrés du houblon se retrouvant dans la bière, le 2-méthylthiobutanoate de S-méthyle, le 3-mercaptohexanol (3MH), l'acétate de 3-mercaptohexyle (3MHA), le 4-méthyl-3-mercaptopentanol (3M4MP) et le 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one (4MMP) ont un fort impact sur l'arôme du produit final. Le 4MMP est connu pour apporter une note de fruit rouge, voire de cassis<sup>80</sup>.

Le 4MMP (Figure 20) est absent des cultivars européens, mais très présents dans les américains comme Cascade. D'ailleurs, lorsqu'un houblon américain est mis en culture en Europe, il cesse de produire ce composé. Cette particularité du sol européen pourrait s'expliquer par sa haute teneur en sulfate de cuivre qui est utilisé dans les cultures de vigne pour ralentir la progression du mildiou<sup>81</sup>.

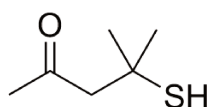
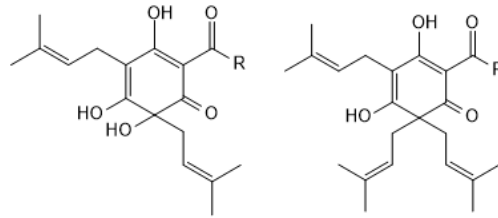


Figure 20 : Structure chimique du 4-méthyl-4-mercaptopentane-2-one (4MMP)

Ces composés soufrés, et plus particulièrement le 4MMP, sont responsables des arômes de cassis et de raisin typiques aux cultivars américains, néozélandais et australiens. Ces arômes sont donc souvent absents des houblons européens.

### c. Les $\alpha$ -acides et les $\beta$ -acides

Comme dit précédemment, l'amertume du houblon est principalement donnée par deux familles de composés : les  $\alpha$ -acides et les  $\beta$ -acides dont les structures chimiques sont illustrées à la Figure 21. Bien que nommées traditionnellement « acides », ces molécules ne possèdent pas de groupement carboxylique, mais un hydroxyle en position  $\alpha$  ou  $\beta$  d'un carbonyle. Les  $\alpha$ -acides sont appelés humulones et les  $\beta$ -acides sont dénommés lupulones. Ces deux familles sont des dérivés prénylés du 1-acyl-phloroglucinol. Leurs précurseurs biosynthétiques sont l'isovaleryl-CoA, le malonyl-CoA et le diméthylallyl pyrophosphate. Ce dernier, comme les terpènes, découle de la voie biosynthétique du deoxyxylulose<sup>82</sup>.



$\alpha$ -acides	R	$\beta$ -acides
Humulone	$\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$	Lupulone
Cohumulone	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Colupulone
Adhumulone	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	Adlupulone

Figure 21 : Structure chimique des  $\alpha$ -acides et des  $\beta$ -acides

Les teneurs en  $\alpha$ -acides permettent de différencier deux types de houblon : les « aromatisants » qui ne renferment que 2 à 5 % d' $\alpha$ -acides et les « amérisants » qui en contiennent entre 7 et 20 %<sup>54</sup>. Suivant la catégorie dans laquelle ils se placent, les houblons seront ajoutés au début (amérisants) ou à la fin (aromatisants) du brassage. À titre d'exemple, le Tableau 2 catalogue quelques cultivars des plus usités dans ces deux catégories. Lorsqu'ils se situent entre les deux profils, ils sont appelés « Dual ».

Tableau 2 : Cultivars aromatisants ou amérisants

Cultivars	Catégorie
Brewers Gold	Amérisant
Cascade	Amérisant
Nugget	Amérisant
Chinook	Dual
Hallertau	Aromatisant
Saaz	Aromatisant
Tettnanger	Aromatisant

Les teneurs en  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides dans le houblon sont généralement maximales à la fin de la floraison<sup>83</sup>. Cependant, ces concentrations peuvent varier au sein d'un même cultivar en fonction des facteurs climatiques de l'année de récolte tels que les précipitations, les expositions solaires et éoliennes, par exemple<sup>84</sup>.

Il faut garder présent à l'esprit qu'au cours du brassage, les  $\alpha$ -acides (humulones) s'isomérisent sous l'effet de la chaleur en iso- $\alpha$ -acides (Figure 22), tandis que les  $\beta$ -acides (lupulones) ne semblent pas subir de changement de conformation. Les iso- $\alpha$ -acides sont connus pour amplifier drastiquement le potentiel amérisant des bières et sont donc particulièrement recherchés<sup>85</sup>. Quand la bière est exposée à la lumière, les isohumulones (iso-

$\alpha$ -acides) se décomposent en présence de riboflavine en 3-méthylbut-2-ène-1-thiol (un composé soufré à l'odeur particulièrement nauséabonde) ainsi qu'en acide déshydrohumulinique.

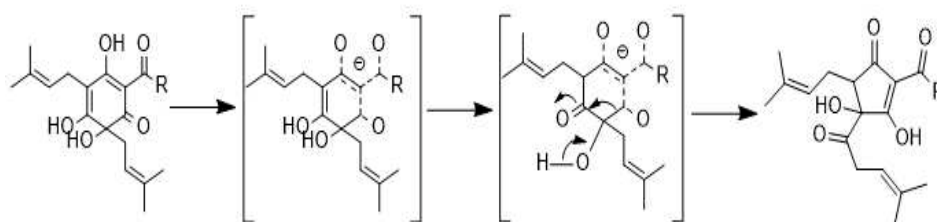


Figure 22 : Isomérisation des  $\alpha$ -acides

Enfin, notons que d'autres composés de ces deux familles se retrouvent à des teneurs beaucoup plus faibles dans le houblon, cependant leur impact sur le potentiel amérisant est assez mal décrit<sup>76,86</sup>. C'est, notamment, le cas de la posthumulone, de la cohulupone et de la humulinone dont les structures sont décrites dans la Figure 23.

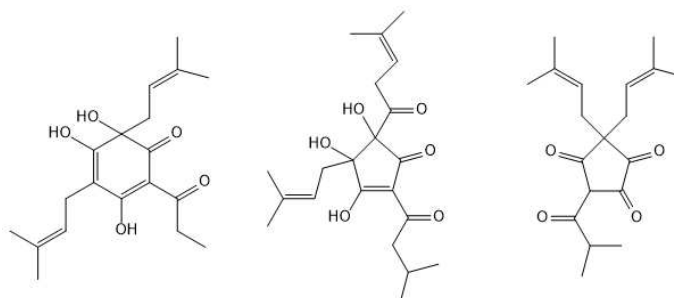


Figure 23 : Structures chimiques de la posthumulone, de la cohulupone et de la humulinone

### C. Flaveur

L'odorat est sans doute notre sens le plus développé. En 1980, Dr Paul Rozin a prouvé qu'il existait des différences entre les perceptions d'odeurs orthonasales (inspiration) et rétronasales (expiration). La perception rétronasale permet l'association atypique d'un goût (ou saveur) et d'une odeur, créant ainsi ce que l'on appelle une « flaveur ». La flaveur est subjective. Elle est perçue différemment chez les individus, car elle est liée à la mémoire<sup>87</sup>. En analysant l'ADN humain, Linda Buck et Richard Axel (tous deux Prix Nobel de médecine en 2004) ont découvert que de nombreux gènes dédiés à l'odorat demeurent inactifs. Sur le millier de récepteurs olfactifs que renferment les voies nasales, seulement 350 sont utilisés ; la partition est propre à chacun, ce qui explique les différences de perception olfactive entre deux individus<sup>88</sup>. La flaveur du houblon est explicitée en détails dans la partie « Perception sensorielle du houblon » du « Nouveau Chapitre de Thèse » (NCT).



## CHAPITRE 2

### Préparation des échantillons végétaux



*Figure 24 : Photographie d'une houblonnière commerciale*

Les expérimentations exposées dans ce chapitre ont été réalisées dans le cadre d'une collaboration avec l'Office de l'Environnement de Corse dans l'optique d'une valorisation botanique et chimique des houblons poussant à l'état spontané sur une large partie du territoire. Cette étude, la première portant sur le Houblon de Corse, vise à décrire les particularités de cette ressource insulaire sous-exploitée à travers le développement :

- d'une stratégie d'échantillonnage en vue de la mise en lumière de l'homogénéité, ou au contraire de l'hétérogénéité, botanique et chimique de la ressource locale.
- d'une houblonnière expérimentale à des fins de mise en culture du végétal poussant actuellement à l'état spontané.
- d'un protocole de renforcement du houblon corse par l'hybridation contrôlée de cultivars commerciaux robustes, sans perdre sa typicité organoleptique d'origine.



# I. Stratégie d'échantillonnage du houblon

## A. Houblon de Corse

Tous les houblons de Corse étudiés dans les différentes expérimentations sont présentés dans le Tableau 3 ; les identifiants choisis seront conservés tout au long de ce document.

Tableau 3 : Houblons de Corse échantillonnés

Identifiant	Variété	Année
C1	Corte cultivé	2015
C2		2016
C3		2017
C4		2019
C5		2020
C6		2021
C7	Corte spontané	2017
C8		2019
C9		2020
C10		2021
C11	Canale cultivé	2016
C12		2017
C13		2019
C14	Canale spontané	2016
C15		2020
C16		2021
C17	Santa Maria Poggio spontané	2016
C18		2020
C19		2021
C20	Oletta spontané	2019
C21		2020
C22		2021
C23	Ajaccio spontané	2019
C24		2020
C25		2021
C26	Aleria-Corte 1 spontané	2020
C27		2021
C28	Aleria-Corte 2 spontané	2020
C29	Plage de Porto-Pollo spontané	2020
C30		2021
C31	Propriano spontané	2020
C32		2021
C33	Biguglia spontané	2020
C34		2021
C35	Urbino spontané	2020
C36		2021
C37	Lucciana Canoë spontané	2020
C38		2021
C39	Venzolasca spontané	2020
C40		2021
C41	Patrimonio spontané (pour analyses génétiques)	2019

Les houblons poussant à l'état spontané entre 2019 et 2021 ont été récoltés en suivant le protocole décrit infra. Après une prospection de plus de 1500 km, une carte représentant les stations de houblons de Corse a été dressée en partenariat avec le Conservatoire botanique de

l'Office de l'Environnement de Corse (Figure 25 - gauche). Ces houblons ont été échantillonnés dans treize de ces stations (Figure 25 - droite), sur les mêmes pieds chaque année lorsque cela était possible.

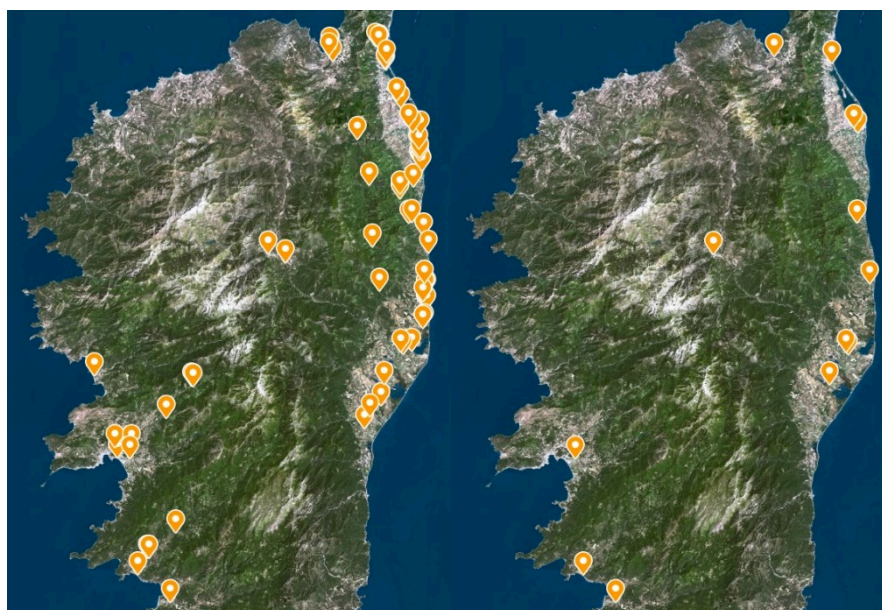


Figure 25 : Stations localisées en Corse (gauche) et stations échantillonnées (droite)

Ces stations possèdent des caractéristiques qui leur sont propres, telles que la latitude, l'altitude, la composition du sol, l'humidité et l'exposition solaire. La pédologie des stations est illustrée dans la Figure 26. Les stations sélectionnées et leurs caractéristiques sont décrites dans le Tableau 4.

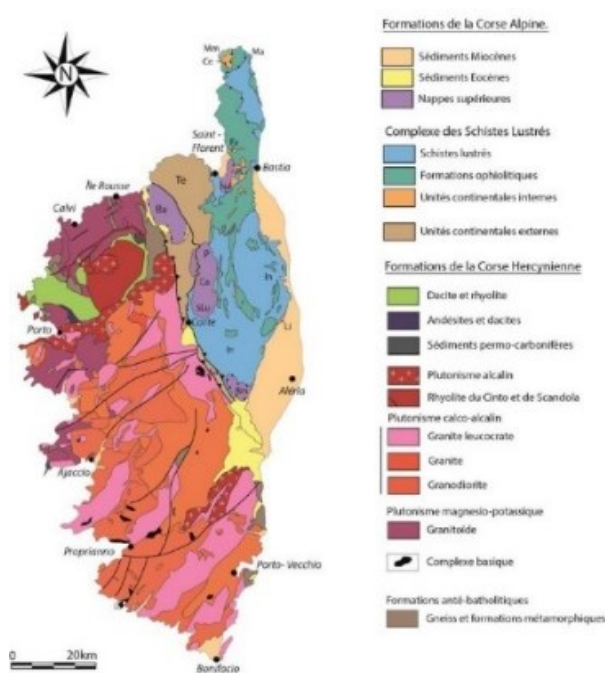


Figure 26 : Pédologie de la Corse

Tableau 4 : Échantillonnage des houblons de Corse

	Station	Altitude	Pédologie	Exposition solaire	Humidité	Coordonnées
1	Corte	396m	Schisteux/Granitique	Moyenne	Forte	42.303591 9.153470
2	Santa-Maria-Poggio	30m	Schisteux	Forte	Faible	42.361023, 9.510633
3	Oletta	0m	Sédimentaire/Schisteux	Forte	Faible	42.660040 9.317900
4	Ajaccio	0m	Sédimentaire/Granitique	Forte	Faible	41.709721 8.826631
5	Biguglia	0m	Sédimentaire	Moyenne	Moyenne	42.654320, 9.447344
6	Lucciana-canoë	10m	Sédimentaire	Forte	Faible	42.537612, 9.501848
7	Venzolasca	0m	Sédimentaire	Forte	Faible	42.527275, 9.513531
8	Canale di Verde	10m	Sédimentaire	Forte	Faible	42.249521, 9.542962
9	Aleria-Corte 1	10m	Sédimentaire	Forte	Faible	42.118835, 9.489399
10	Aleria-Corte 2	30m	Sédimentaire	Forte	Faible	42.123447, 9.483165
11	Urbino	0m	Sédimentaire	Moyenne	Moyenne	42.062629, 9.442361
12	Plage Porto-Pollo	0m	Granitique	Forte	Faible	41.924845, 8.808107
13	Propriano	0m	Granitique	Forte	Faible	41.658382, 8.909127

Les houblons spontanés de 2016 et 2017 ont été récoltés dans des conditions similaires par les équipes de la brasserie Ribella, puis conservés à -18°C jusqu'au début effectif du doctorat.

En 2015, les équipes de la brasserie ont mis en culture des houblons spontanés de Corte (C1-C3) et de Canale (C11-C12). Des échantillons de cônes ont été récoltés lorsque cela était possible et conservés à -18°C jusqu'au début du doctorat. Par la suite, les cônes de ces mêmes cultivars ont été récoltés entre 2019 et 2021 (C4-C6, C13) dans le cadre de ces travaux de Thèse.

Tous les échantillons ont été traités et analysés de la même manière, en triplicats.

## B. Cultivars commerciaux

Dans notre travail, tous les cultivars commerciaux de houblon utilisés dans les différentes expérimentations sont présentés dans le Tableau 5. Les cultivars commerciaux d'Allemagne (V4, V7, V10) et ceux transplantés en Corse (V5-V6, V8-V9, V11-V12) sont cultivés chez Locher-Hopfen dans la région du Tettngang (coordonnées 47.668861, 9.604528) ou ont été transplantés de cette zone vers l'houblonnière expérimentale Ribella dans les alentours littoraux de Patrimonio en 2019. Tous les autres échantillons (V1-V3 ; V13-V17) ont été récoltés par les équipes de la brasserie et proviennent de houblons commerciaux d'origines diverses transplantés en 2015 à proximité de la brasserie (coordonnées : 42.695583, 9.344222).

Tableau 5 : Cultivars commerciaux échantillonnés

Identifiant	Cultivar	Année d'échantillonnage	Type de sol
V1	American Cascade	2015	Sédimentaire-schisteux
V2		2016	Sédimentaire-schisteux
V3		2017	Sédimentaire-schisteux
V4	Cascade Allemagne	2019	Argilo-sableux
V5	Cascade transplanté Corse	2019	Sédimentaire-schisteux
V6		2020	Sédimentaire-schisteux
V7	Smaragd Allemagne	2019	Argilo-sableux
V8	Smaragd transplanté Corse	2019	Sédimentaire-schisteux
V9		2020	Sédimentaire-schisteux
V10	Tettnanger Allemagne	2019	Argilo-sableux
V11	Tettnanger transplanté Corse	2019	Sédimentaire-schisteux
V12		2020	Sédimentaire-schisteux
V13	Brewer's gold	2017	Sédimentaire-schisteux
V14	Chinook	2016	Sédimentaire-schisteux
V15	Opal	2015	Sédimentaire-schisteux
V16	Saaz	2015	Sédimentaire-schisteux
V17	Magnum	2015	Sédimentaire-schisteux
V18	<i>Cascade transplanté Corse</i>	<i>2021</i>	<i>Sédimentaire-schisteux</i>

Tous les échantillons ont été traités et analysés de la même manière, en triplicats.

## II. Développement d'une houblonnière expérimentale

### A. Analyse des sols

L'houblonnière a la particularité d'être composée de deux sols assez différents. Le premier, sur le côté Est, près d'une rivière, possède une part élevée de sable. La partie Ouest, près d'une plantation de vignes, est plus équilibrée. Dans les deux cas, des carottes de terre ont été prélevées à 20 cm de profondeur.

La détermination de la qualité d'un sol est définie par sa granulométrie, son taux de matière organique, son pH et sa quantité d'éléments nutritifs.<sup>89</sup> Par manque de matériel, ces trois dernières mesures ont été effectuées en sous-traitance par un laboratoire spécialisé (Capinov).

#### 1. Granulométrie

Une analyse granulométrique a été effectuée sur le terrain selon le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. La Figure 27 illustre les différents types de grains en fonction de leur taille ; les matières organiques sont en suspension à la surface de l'eau.

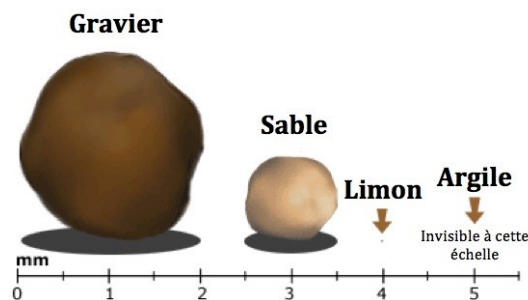


Figure 27 : Échelle de grains, étude du sol

Afin de déterminer la texture d'un sol à partir du « test du bocal », il faut reporter les teneurs en sable, limon et argile sur un triangle des textures, comme présenté dans la Figure 28.

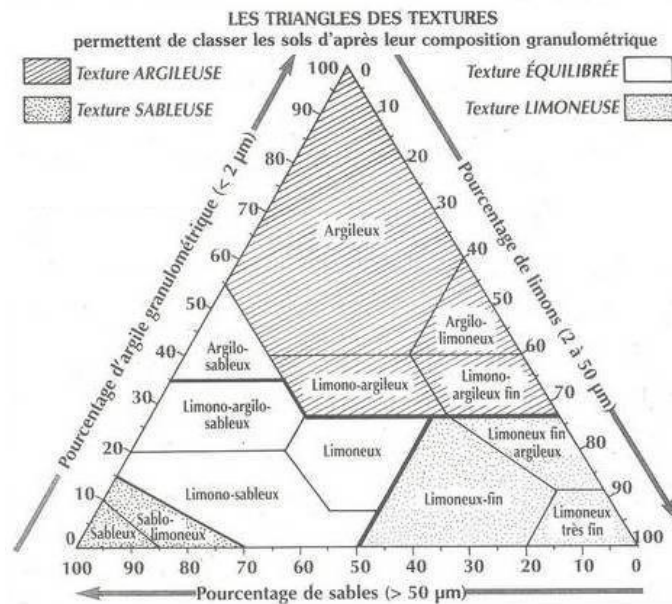


Figure 28 : Triangle des textures, granulométrie

La texture de sol dite équilibrée correspond à l'optimum, dans la mesure où elle présente la plupart des qualités des trois types sableux, limoneux et argileux, sans en avoir les défauts. En se basant sur la granulométrie, la texture équilibrée considérée comme la plus favorable à la culture est 15 à 20 % d'argile, 30 à 40 % de limons, 40 à 50 % de sables.<sup>90</sup>

Le côté Est de l'houblonnière est composé de 61,0 % de sable, 38,6 % de limon, et 0,4 % d'argile, avec très peu de matière organique. Selon la Figure 28, il s'agit d'un sol limono-sableux. Outre cette majeure part de sables, il est à noter qu'avant tamisage, il y avait une grande abondance de graviers. Or, même si le houblon a besoin d'un sol bien drainé, les sables et les graviers ne retiennent pas assez l'eau et augmentent donc les besoins hydriques des pieds. Afin d'améliorer la rétention en eau, il faut amender le sol avec du compost ou du fumier composté possédant une structure spongieuse qui ralentira le drainage.

Le côté Ouest de l'houblonnière est composé de 53,8 % de sable, 40,0 % de limon, et 6,2 % d'argile. Selon la Figure 28, il s'agit d'un sol limoneux-fin avec très peu de graviers. La teneur en sables est encore légèrement trop élevée, mais le rapport total s'approche de celui de l'optimum décrit précédemment.

## 2. Mesure de pH

L'influence du pH du sol sur le développement des houblons n'est, à ce jour, pas encore clair. En effet, le pH du sol dans la vallée de Willamette (un houblon commercial très utilisé) varie de 5,0 à 7,0 sans causer de dommages au végétal. Cependant, il a été démontré une relation

entre le pH et les teneurs en manganèse dans les cellules du végétal. Mn est un élément essentiel au houblon, mais qui devient toxique à forte dose. Les teneurs en Mn semblent augmenter lorsque le pH diminue. La mesure de pH d'un sol est complexe, car l'équilibre acido-basique d'un sol dépend de nombreux paramètres. Il n'est pas fiable de mesurer le pH directement dans la terre, et moins encore après l'avoir dissoute dans de l'eau, car le ratio de dilution terre/eau fait varier le pH mesuré. Dissoudre l'échantillon de terre dans une solution de  $\text{CaCl}_2$ , en revanche, réduit la magnitude du potentiel de jonction liquide et permet d'éviter une variation de la mesure.<sup>91</sup>

Le pH du sol est de 6,00 sur le côté Ouest de l'houblonnière, ce qui est trop bas pour permettre une activité bactérienne saine. L'application de fumiers compostés pourra légèrement augmenter ce pH. Sur le côté Est, il est de 8,00, ce qui est trop alcalin. Cette disparité peut s'expliquer par une abondance de calcaire tendant à augmenter le pH. Cette basicité est problématique, car elle peut engendrer des blocages de manganèse, de cuivre et de zinc.

### 3. Quantification des composés organiques du phosphore

Le phosphore est indispensable au développement de tout être vivant, car il entre, entre autres choses, dans le mécanisme de métabolisation de l'énergie (ATP – Adénosine triphosphate) et de la croissance cellulaire.<sup>92</sup>

Afin de pouvoir quantifier les composés organiques du phosphore du sol, il est nécessaire de les extraire le plus efficacement possible. Dans ce cas précis, les meilleurs solvants d'extraction ont un pH basique. Associés à de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) qui est un agent chélatant des cations métalliques, ces solvants alcalins ont une grande efficacité pour l'extraction des composés organiques du phosphore du sol.<sup>93</sup>

Trois échantillons des deux différentes parties de l'houblonnière ont été prélevés, tamisés, puis stockés dans des flacons hermétiques. En laboratoire, ces six échantillons ont été séchés à l'étuve durant une heure à 80°C, puis soumis à une extraction à 85°C durant 2h dans une solution à 0,25 mol/L de NaOH et 0,05 mol/L d'EDTA. L'extrait obtenu a été séché dans une étuve afin de calculer la matière sèche et ainsi réaliser une quantification.

La teneur en  $\text{P}_2\text{O}_5$  considérée comme optimale pour la culture du houblon est comprise entre 0,12 et 0,18g/kg. Dans la partie Est de notre houblonnière, la teneur en  $\text{P}_2\text{O}_5$  est de 0,05 g/kg. Le sol de la partie Ouest a une teneur en  $\text{P}_2\text{O}_5$  de moins de 0,01g/kg. Ces teneurs trop faibles peuvent ralentir la croissance du végétal. Un apport phosphaté est donc nécessaire.



#### 4. Équilibre matière organique / rapport C/N

La qualité et la quantité de matière organique est déterminée par les teneurs en carbone organique et en azote disponibles dans le sol. Il est indispensable que les teneurs en carbone et en azote du sol se situent dans une fourchette bien précise, car les microorganismes agissant dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique nécessitent du carbone comme source d'énergie, et de l'azote en tant qu'intermédiaire dans la synthèse de leurs protéines. On peut considérer qu'un sol est fertile si la valeur du rapport C/N est d'environ 10.<sup>94</sup>

Un moyen efficace de quantifier les teneurs en carbone et azote dans un échantillon est de réaliser une analyse élémentaire au moyen d'un analyseur CHN. Les rapports C/N du sol de notre houblonnière sont de 12,7 et 16,0 respectivement pour la partie Est et la partie Ouest. Ces valeurs trop élevées démontrent une pénurie d'azote organique.

Le taux de matière organique M.O est calculé de la manière suivante :  $M.O = C.Org \text{ (g/kg de terre)} * 1,73$ . Dans notre houblonnière, le taux de M.O est respectivement de 27,6g/kg et de 27,9g/kg. Ces dernières valeurs sont considérées comme optimales.

Comme l'indique la Figure 29, les deux types de sols de l'houblonnière sont situés dans une zone correspondant à une mauvaise dégradation des matières organiques. Une solution est de décompacter la terre en hiver et de l'amender avec un engrais azoté.

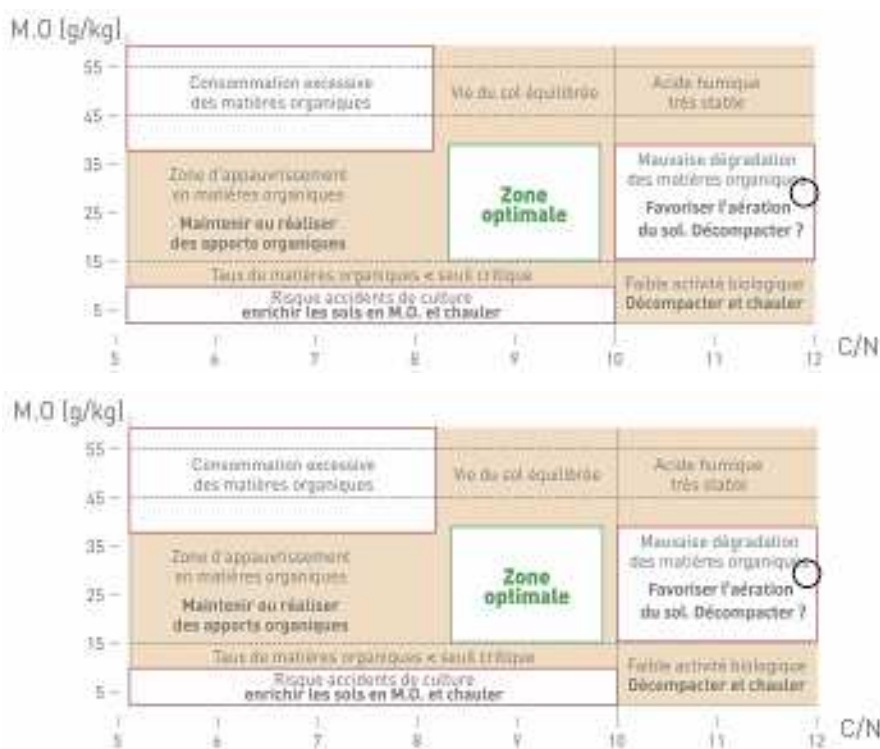


Figure 29 : Équilibres M.O / C/N de l'houblonnière est (haut) et ouest (bas)



## 5. Quantification des macro-éléments et des oligo-éléments

Trois macro-éléments (Mg, Ca et K) ainsi que trois oligo-éléments (Zn, Cu et Mn) ont une importance significative dans la qualité d'un sol agricole.

- Le magnésium est indispensable à la photosynthèse, car il entre dans la composition de la chlorophylle. Une carence en magnésium conduit souvent à la réduction de l'efficacité de la photosynthèse, voire à son arrêt total et la mort du végétal.
- Le calcium participe à l'aération des sols en flocculant les argiles et à l'équilibre du pH par son caractère amphotère.
- Le potassium joue un rôle dans la photosynthèse, facilite le transport de divers composés azotés des racines vers les feuilles et contribue au renforcement des défenses contre les infections fongiques. Surtout, il permet par le biais d'équilibres osmotiques l'ouverture et la fermeture des stomates. Une trop faible concentration en  $K^+$  conduit souvent au dessèchement du végétal.<sup>95</sup> Le potassium est apporté à la plante entièrement par le sol. Dans un climat sec comme celui de la Corse, surveiller les teneurs en potassium dans les sols agricoles est d'autant plus crucial.
- Le zinc est important pour la production des hormones de croissance et des protéines du végétal. Le bon développement racinaire dépend grandement des teneurs en zinc du sol.
- Le cuivre entre dans la composition de la paroi cellulaire externe et participe à la production enzymatique de la plante.
- Le manganèse est un élément trace typique des sols. Il est un oligoélément qui interfère avec le microbiote du sol et qui est impliqué dans l'activation des enzymes. Un déficit en Mn peut induire une diminution de la taille et de la fertilité des grains de pollen, ainsi qu'une diminution de la photosynthèse. Inversement, au-delà de certains seuils, le manganèse présente une toxicité pour les végétaux. Les teneurs optimales sont comprises entre 12 à 50 mg/kg de terre.<sup>96,97</sup>

Ces six éléments ont été quantifiés par évaluation de la Capacité d'Échange Cationique (CEC) du sol. Il existe plusieurs méthodes normalisées de mesure de la CEC ; la plus courante est la méthode Metson. La CEC représente la taille du réservoir permettant de stocker de manière réversible certains éléments fertilisants cationiques (K, Mg, Ca...). Elle est liée au complexe argilo humique. La valeur de la CEC d'un sol est fonction des quantités d'argile et de M.O qu'il contient, de la nature des macro- et oligo-éléments et du pH du sol. Elle consiste à déplacer tous les cations adsorbés sur les sites d'échanges de la CEC, puis de saturer ces sites

par un cation unique, qui est l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). L'ammonium est à son tour déplacé, puis dosé par spectrophotocolorimétrie automatique. Une CEC équilibrée se situe entre 9 et 15 méq/kg.

Dans la partie Est de notre houblonnière, la CEC est de 117 méq/kg (Figure 30), ce qui est beaucoup trop élevé. Le sol saturé induit un blocage des apports en cations du sol vers la plante. Ce blocage peut être causé par le pH trop élevé. Les teneurs en sels échangeables CaO et MgO sont trop élevées, ce qui peut conduire à des troubles de la photosynthèse et à un compactage des sols. La teneur en K<sub>2</sub>O est satisfaisante.

Teneur du sol	Méq/kg	g/kg	Niveau faible	Niveau satisfaisant	Niveau élevé
*K <sub>2</sub> O échangeable	3,6	0,17	0,14	0,20	
*CaO échangeable	199,9	5,60	1,97	2,63	
*MgO échangeable	13,2	0,27	0,13	0,16	
*C.E.C. Melsan	117 méq/kg				

Figure 30 : Teneurs en macro-éléments de la partie est de l'houblonnière

La Figure 31 indique que les teneurs en Mn et Zn sont satisfaisantes, mais que celle en Cu est beaucoup trop élevée. Ce phénomène pourrait s'expliquer par la proximité de l'houblonnière avec les cultures de vignes traitées au sulfate de cuivre chaque année. La présence de Cu en aussi grande quantité peut ralentir la progression de maladies du houblon tel que le mildiou, mais peut également déséquilibrer la structure de la paroi cellulaire des végétaux.

Teneurs du sol (mg/kg)	très faible	faible	satisfaisant	élevé	très élevé
* Cuivre (Cu) EDTA		1,25	8,00		
* Manganèse (Mn) EDTA		12,00	50,00		
* Zinc (Zn) EDTA		1,20	10,00		

Figure 31 : Teneurs en oligo-éléments de la partie est de l'houblonnière

Dans la partie ouest de notre houblonnière, la CEC est de 112 méq/kg, (Figure 32) ce qui est beaucoup trop élevé. Le sol saturé induit un blocage des apports en cations du sol vers la plante. Les teneurs en K<sub>2</sub>O et CaO sont satisfaisantes, mais la proportion en MgO est trop forte (0,51g/kg), ce qui peut induire un trouble de la photosynthèse.

Teneur du sol	Méq/kg	g/kg	Niveau faible	Niveau satisfaisant	Niveau élevé
*K <sub>2</sub> O échangeable	4,3	0,20	0,14	0,20	
*CaO échangeable	75,6	2,12	1,88	2,50	
*MgO échangeable	25,0	0,51	0,12	0,15	
*C.E.C. Melsan	112 méq/kg				

Figure 32 : Teneurs en macro-éléments de la partie ouest de l'houblonnière

La Figure 33 indique que Cu est à nouveau en trop grande quantité. Cependant, c'est également le cas de Mn, qui lui présente une forte toxicité pour le végétal. Le Zn, quant à lui, est en défaut. Cette faiblesse pourrait conduire à un ralentissement de la croissance du végétal.

Teneurs du sol (mg/kg)	très faible	faible	satisfaisant	élevé	très élevé
* Cuivre (Cu) EDTA	28.29	1.25	8.00		
* Manganèse (Mn) EDTA	60.58	12.00	50.00		
* Zinc (Zn) EDTA	1.25	1.20	10.00		

Figure 33 : Teneurs en oligo-éléments de la partie ouest de l'houblonnière

## 6. Amendements des sols

À l'issue des analyses réalisées sur les deux parties de l'houblonnière, plusieurs aménagements doivent être réalisés.

Partie Ouest : Un engrais phosphoré doit être appliqué sur les rangs de houblon. Cet apport devra se faire chaque année jusqu'à ce que la disponibilité en phosphore soit comprise entre 0,12 et 0,18g/kg de terre. Un décompactage du sol est nécessaire. Afin de respecter la structure du sol, la charte BIO et la biodiversité, il faut éviter un décompactage mécanique. Un semis de trèfles et de lin pourrait aérer les sols et combler la déficience en azote. L'excès de cuivre et de manganèse n'est pas problématique. La rectification en phosphore et le décompactage devraient conduire à un rééquilibrage de ces deux premiers éléments.

Partie Est : En plus des aménagements requis pour la partie ouest, le côté Est de l'houblonnière nécessite également un abaissement du pH. La basicité du sol semble être à l'origine du blocage en oligo-éléments et macro-éléments. L'acidification lente du sol par paillage avec des aiguilles de pin pourrait débloquent l'assimilation des éléments nutritifs.

## B. Mise en culture

### 1. Mise en place de l'houblonnière

Trois variétés commerciales de houblon (Smaragd, Cascade et Tettnanger) fournies par Locher-Hopfen (Région de Tettngang, Allemagne) ont été mises en culture en Corse en avril 2019. De plus, deux houblons corses poussant originellement à l'état spontané, mis en culture en 2015, mais laissé à l'abandon (Corte et Canale) ont été de nouveau entretenus.

Pour cela, un hectare de terrain agricole (Figure 34) a été aménagé en houblonnière près de la brasserie Ribella. Cette proximité a été décidée afin de réduire les coûts et la pollution liés au transport des cônes de houblon vers la brasserie.

La pente du terrain choisi est de 7,0 %. Le sol est sablonneux, ce qui assure un bon drainage. Avant de planter les rhizomes, le terrain a été défriché et le sol a été légèrement aéré. L'houblonnière a été aménagée en trente-deux rangs orientés Nord-Sud en raison du vent et de la pente. Les rangs sont espacés de 3,20 m afin de faciliter le passage de véhicules agricoles. Au sein d'un même rang, les pieds sont espacés de 1,30 m afin de limiter la transmission de maladies.



Figure 34 : Préparation de l'houblonnière mars 2019 (gauche) et mai 2020 (droite)

Les 1820 rhizomes ont été plantés à 20 cm de profondeur. D'autres rhizomes ont été empotés pour faire face à d'éventuelles pertes. Une fois plantés, les rhizomes ont été abondamment arrosés afin de déclencher leur bourgeonnement. Un suivi de la pousse de ces houblons a été effectué.

## 2. Suivi de la pousse

Les mesures de la tige primaire des différentes variétés ont été réalisées sur plus de 130 pieds de chaque cultivar. Ce grand nombre d'échantillons assure la répétabilité des résultats (Figure 35).

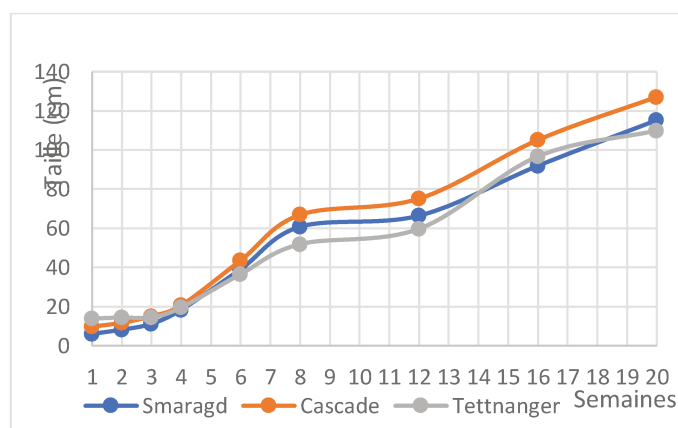


Figure 35 : Courbes de croissance des cultivars allemands 2019

Cette croissance a été corrélée aux conditions climatiques, obtenues auprès de Météo France d'avril à août 2019 (Figure 36, Figure 37, Figure 38, Figure 39 et Figure 40). Les températures maximales et minimales, la hauteur des précipitations ainsi que la durée d'ensoleillement étaient les critères observés.

Les trois variétés ont présenté un comportement assez similaire. Avec des conditions climatiques normales pour la saison (Figure 36), elles n'ont poussé que peu sinon pas durant les trois premières semaines. Puis leur croissance a entamé une phase d'accélération.

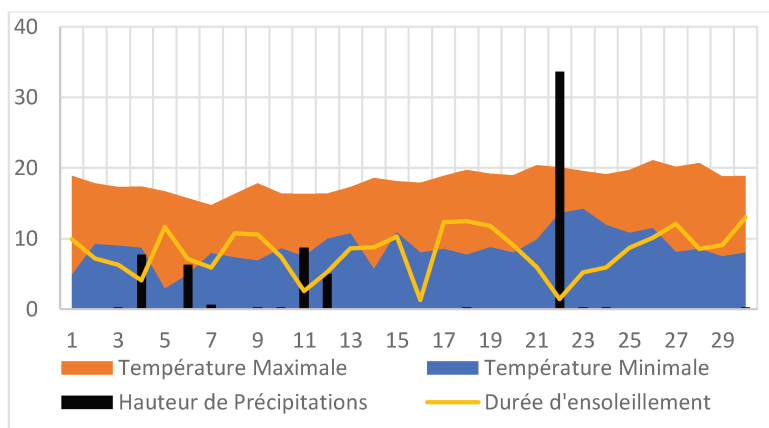


Figure 36 : Bilan climatique avril 2019

Le deuxième mois (mai 2019, Figure 37), les tiges primaires ont gagné en moyenne 1,45 cm par jour. Cette période était propice à la croissance des végétaux avec une assez bonne exposition solaire (6,7 heures en moyenne) et assez de précipitations (3,3 mm par jour en moyenne).

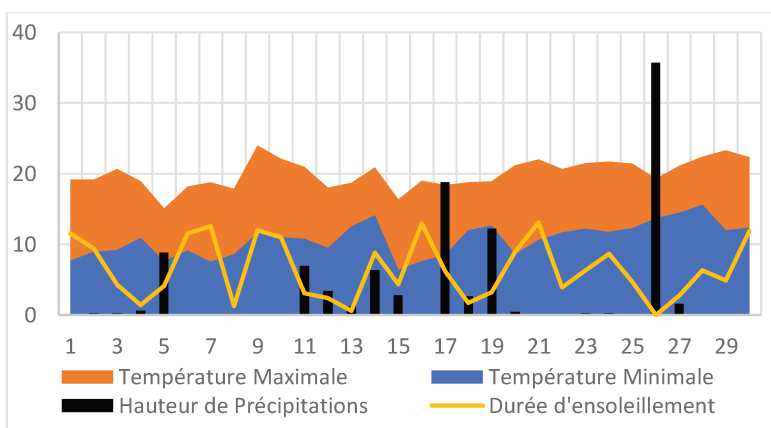


Figure 37 : Bilan climatique mai 2019

La croissance a brusquement ralenti en juin (semaines 8-12), période durant laquelle les pieds ne poussaient plus que de 0,24 cm par jour en moyenne. Ce ralentissement pourrait s'expliquer par la période de sécheresse qui s'est installée (Figure 38). En effet, l'exposition

solaire était haute (11,4 heures par jour en moyenne), les températures minimales ne chutaient pas assez (18,0°C par jour en moyenne) tandis que les maximales étaient très hautes (28,0°C par jour en moyenne), et les précipitations étaient pratiquement nulles (0,05 mm par jour en moyenne, répartis sur quatre jours).

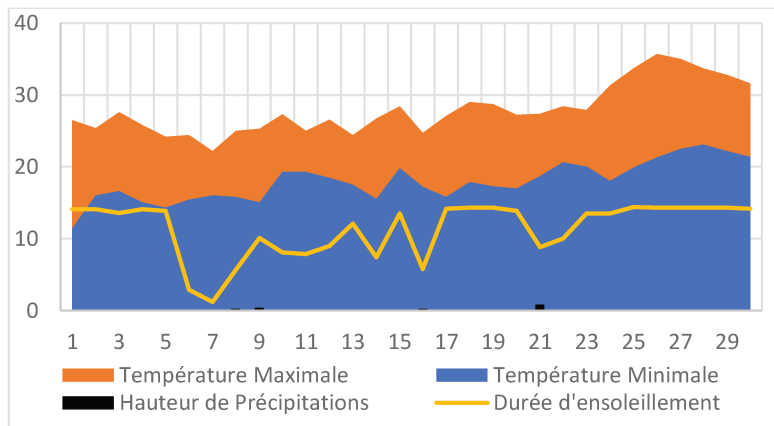


Figure 38 : Bilan climatique juin 2019

On constate une nouvelle accélération en juillet (semaines 12-16) avec une pousse de 1,03 cm par jour en moyenne. Les conditions climatiques étaient alors redevenues correctes (Figure 39), avec des températures douces et une exposition solaire presque constante. Cependant, il est à noter que ces conditions climatiques n'étaient pas optimales pour autant, car le temps était très sec en dehors de deux journées de grosses précipitations.

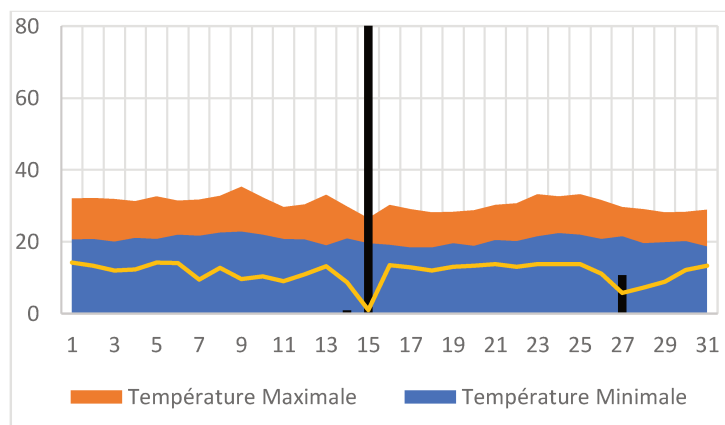


Figure 39 : Bilan climatique juillet 2019

Finalement, la croissance a très légèrement ralenti durant le mois d'août 2019. Ceci pourrait s'expliquer par l'instabilité de l'exposition solaire (Figure 40) ainsi que par le fait que les pieds avaient probablement atteint leur taille maximale possible sans installation de tuteurs.

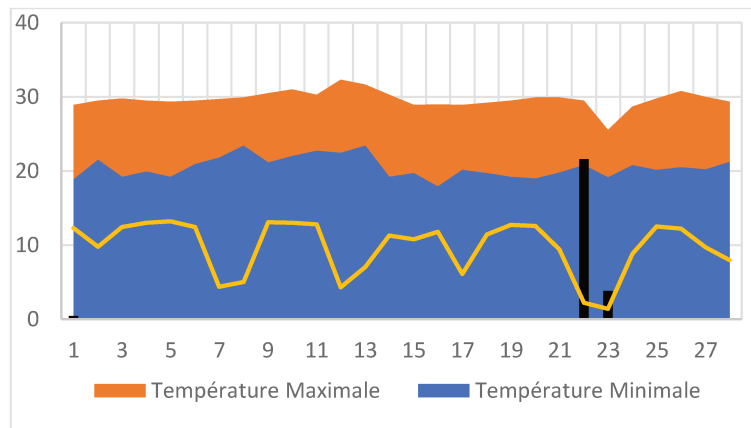


Figure 40 : Bilan climatique août 2019

Après 20 semaines de culture, la taille maximale des houblons était de 209 cm pour le cultivar Cascade. Si l'on observe les courbes de croissances obtenues dans la littérature pour le cultivar Fuggle (voir : État de l'Art), on constate qu'après 16 semaines, les houblons atteignent en moyenne une hauteur de plus de 8 m. Néanmoins, dans notre cas, il est logique que la croissance ait été grandement impactée par l'absence de tuteurs pour les pieds. Cette première année de culture était nécessaire à l'acclimatation des rhizomes dans le sol insulaire. Les relevés de taille, quant à eux, permettent de mettre en exergue l'impact des conditions climatiques sur la croissance du houblon. Il en ressort que le houblon est une plante assez fragile qui dépend grandement des précipitations et de l'exposition solaire. Pour les années suivantes, une attention particulière devra être accordée à l'arrosage de l'houblonnière.

## C. Hybridation

### 1. Pollinisation

Les fleurs mâles des houblons spontanés de Corse sont apparues assez tôt, à la fin du mois de juin. Les fleurs femelles, en revanche, sont arrivées très tard à maturité (dernière semaine d'août). Dès l'apparition des premières fleurs femelles dans l'houblonnière, une pollinisation manuelle a été programmée. Les trois cultivars mis en culture étaient des candidats intéressants, car ils présentent des caractéristiques différentes. Cascade est réputé comme étant l'un des cultivars les plus résistants (cette observation a été confirmée dans notre cas ; le cultivar a démontré une grande adaptabilité au changement de terroir). Les deux autres cultivars sont des variétés nobles et présentent des propriétés organoleptiques aux qualités non négligeables.

Le 20 août 2019, du pollen de plans mâles de houblons spontanés localisés dans les environs d'Oletta (20232, Haute-Corse) a été récolté dans une boîte en plastique hermétique. Le jour-



même, ce pollen a été déposé délicatement sur les stigmates de nombreuses fleurs des trois cultivars de l'houblonnière (Figure 41) à l'aide d'un pinceau à poils souples.



*Figure 41 : Fleur femelle Cascade et pollen de houblon corse*

Le 26 août 2019, du pollen de plans mâles de houblon spontané localisé dans la ville de Corte (20250, Haute-Corse) a été récolté et a été déposé sur des fleurs de l'houblonnière de la même façon que précédemment.

Ces fleurs ont été surveillées chaque jour afin de s'assurer que le pollen s'y trouvait toujours. Finalement, début septembre, les cônes se sont formés et ont recouvert les fleurs, empêchant ainsi le suivi de la pollinisation.

Ce protocole a été répété l'année suivante à partir de pollen provenant de pieds mâles situés à Oletta sur les trois cultivars de l'houblonnière, à savoir Cascade, Tettnanger et Smaragd,

## 2. Fructification

Après la pollinisation manuelle, les fleurs étudiées ont été recouvertes par l'apparition des cônes. L'absence de pluie ainsi que les faibles vents durant cette période ont évité le lessivage du pollen déposé sur les stigmates.

Le 14 septembre 2019, tous les cônes des pieds pollinisés ont été récoltés manuellement et placés dans des bocaux en verre hermétiques. Les cônes pouvaient alors être considérés comme matures, car leur teinte avait viré au brun et la lupuline était désormais bien visible. Les trois cultivars dégageaient une odeur caractéristique. Dans un environnement stérilisé et abrité du vent, les bractées ont été détachées délicatement une par une afin de recueillir les graines contenues à l'intérieur.



Environ la moitié des cônes n'avait pas fructifié. Pour ce qui est de l'autre moitié, les graines (akènes) étaient, en moyenne, au nombre de trois par cône. Les akènes (Figure 42) avaient des tailles variables et étaient souvent complètement recouverts de lupuline. Les glandes à lupuline étaient également bien visibles et odorantes. Les graines ont été placées dans des contenants en verre hermétiques.



Figure 42 : Akène de houblon contenu dans une bractée

Ce protocole a été répété en août 2020.

Les pollinisations des fleurs de Smaragd et Tettninger n'ont donné de résultats ni en 2019, ni en 2020. Ceci pourrait s'expliquer par une mauvaise tenue du pollen sur les stigmates ou par une faiblesse énergétique des pieds pollinisés. Il est très improbable que ce phénomène puisse s'expliquer par une incompatibilité entre ces cultivars commerciaux et le houblon spontané de Corse. Cependant, de plus amples recherches devraient être portées sur le sujet.

### 3. Germination

#### **Prétraitement**

Les graines obtenues en 2019 ont été soumises à une germination *in vitro* afin de limiter les pertes naturelles conséquentes. Les deux hybrides étudiés sont Cascade x Oletta et Cascade x Corte. La méthodologie appliquée pour la germination lie les deux modes opératoires développés par A. Haunold<sup>98</sup> et C. Liberatore<sup>99</sup> à savoir une période de froid, un traitement abrasif, une stérilisation et un semis *in vitro* sur boîte de Petri.

Pour germer, les graines de houblon doivent être au sortir d'une période de froid<sup>100</sup> correspondant naturellement à l'hiver. Afin d'appliquer des conditions similaires en laboratoire, les échantillons ont été placés au congélateur à -18°C durant douze semaines. Après cette

période de froid, les graines ont été ramenées à température ambiante afin de simuler la venue du printemps et ainsi stimuler le déclenchement de la germination<sup>101</sup>.

Les graines de Cascade x Oletta et de Cascade x Corte ont été soumises à une stratification forcée à l'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durant 5mn. Cette étape a pour but de dissoudre la lupuline (couche grasse) entourant les graines et fragiliser leur contour, afin de faciliter la pénétration de l'eau<sup>102</sup>. De plus, dans la littérature, il a été suggéré que les glandes à lupulines recouvrant les graines pourraient être des nids à spores fongiques limitant l'efficacité de l'étape de stérilisation à venir. Dissoudre ces graines augmenterait donc l'efficacité de la stérilisation<sup>99</sup>.

Les échantillons ont, ensuite, été stérilisés dans deux solutions successives d'éthanol à 95% durant 5 mn et d'eau de Javel NaOCl à 25% durant 20 mn afin de limiter toute contamination fongique et bactérienne, puis rincés cinq fois à l'eau distillée.

Ce protocole a été répété avec les graines de Oletta x Cascade obtenues en 2020.

### **Ensemencement**

Après leur prétraitement, les graines de 2019 ont été placées dans des boîtes de Petri sur papier buvard humidifié, sur papier buvard imbibé de fongicide (soufre) ou sur coton imbibé de fongicide. Les boîtes de Petri ont été scellées afin de limiter l'évaporation, puis placées dans une étuve à 25°C. L'exposition lumineuse était de huit heures par jour.

Au bout de deux semaines, le taux de germination des graines de Cascade x Oletta était de 28 % contre 12 % pour les graines de Cascade x Corte, ce qui a conduit à l'abandon de la station de Corte pour l'expérimentation de l'année suivante. Aucun effet du fongicide n'a été mis en lumière. Les graines germées ont été mises en terre, mais n'ont pas survécu à l'été.

Après leur prétraitement, les graines de 2020 (Cascade x Oletta) ont été mises en pot directement, sans germination préalable à l'étuve. Le mélange utilisé pour l'ensemencement était de terre noire/terreau fertilisé BIO à 50 %. Les pots ont été arrosés régulièrement et conservés sous une exposition solaire moyenne. Le taux de germination ainsi obtenu était de 36 %, soit 8 % de plus que l'année précédente en boîtes de Petri.

Les pieds obtenus ont été mis en terre en mai 2021 après un réaménagement de l'houblonnière expérimentale. À l'automne 2021, ils étaient au nombre de vingt-six.

## CHAPITRE 3

### Aspect morphologique



*Figure 43 : Liane de houblon*

Les expérimentations exposées dans ce chapitre ont été réalisées en suivant les recommandations de l'*International Union for the Protection of New Varieties of Plants* (UPOV). Cette étude a pour objectifs :

- Une première description morphologique des houblons de Corse spontanés.
- L'analyse de l'impact botanique de la mise en culture sur ces mêmes échantillons.
- Une comparaison des caractères biologiques des houblons corses et de cultivars commerciaux largement utilisés dans le monde brassicole.

## I. Houblons corses spontanés

En suivant les clés de détermination botanique de la partie I.A. de l'état de l'art, le taxon du houblon de Corse a pu être déterminé :

Le végétal observé sur les ripisylves corses est une plante volubile à tige composée de six crêtes. Ses feuilles opposées palmées, ses tiges et ses pétioles possèdent des poils pédonculés rigides. Ses inflorescences femelles sont pendantes et coniques. Ces caractéristiques confirment qu'il s'agit du genre *Humulus*. Le limbe abaxial est sans poils rigides sur les nervures, ce qui caractérise l'espèce *Humulus lupulus*. Le limbe possède moins de vingt-cinq glandes par cm<sup>2</sup> entre les nervures, comme l'illustre la Figure 44 (quatre glandes par cm<sup>2</sup>). Ces caractéristiques correspondent à la variété botanique *lupulus* et confirment, au final, la présence de *Humulus lupulus* var. *lupulus* sur le territoire corse. Aucune différence taxonomique n'a été observée entre les houblons des différentes stations d'échantillonnage.

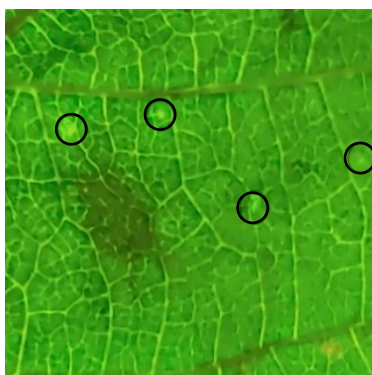


Figure 44 : 1cm<sup>2</sup> de la face abaxiale d'une feuille de houblon sauvage C42

Afin de réaliser la caractérisation morphologique des houblons spontanées de Corse, vingt-et-un paramètres exposés dans le Tableau 6 ont été observés et mesurés en suivant les recommandations de l'UPOV.

Tableau 6 : Paramètres de différenciation phénotypique selon l'UPOV

	<b>Caractère phénotypique</b>	<b>Description</b>
	<i>À la fin de la croissance de la tige primaire</i>	
1	Tige principale : pigmentation anthocyannique	Absent ; faible ; moyen ; fort ; très fort
2	Feuille : taille du limbe	Petit ; moyen ; grand
3	Feuille : cloqure de la face supérieure du limbe	Absent ; faible ; moyen ; fort
4	Feuille : couleur de la face supérieure du limbe	Jaune ; vert-jaune ; vert
5	Si vert : Feuille : intensité du vert de la face supérieure du limbe	Clair ; moyen ; foncé
	<i>Au début de la floraison</i>	
6	Époque de floraison	Précoce ; moyen ; tardif
	<i>Au moment de la maturation des cônes</i>	
7	Plante : taille	Nain ; normal
8	Pousse latérale depuis le tiers médian : Longueur	Court ; moyen ; long ; très long
9	Pousse latérale depuis le tiers supérieur : Longueur	Court ; moyen ; long
10	Pousse latérale depuis le tiers médian : Densité du feuillage	Faible ; moyen ; dense
11	Pousse latérale depuis le tiers médian : Nombre de cônes par nœud	Petit ; moyen ; grand
12	Pousse latérale depuis le tiers médian : Nombre total de cônes	Petit ; moyen ; grand
13	Pousse latérale depuis le tiers supérieur : Nombre total de cônes	Très petit ; petit ; moyen ; grand ; très grand
14	Époque de maturité pour la cueillette des cônes	Précoce ; moyen ; tardif
15	Cône : taille	Petit ; moyen ; grand
16	Cône : forme	Cylindrique ; ovale étroit ; ovale ; ovale large ; circulaire
17	Cône : degré d'ouverture des bractées	Fermé ; peu ouvert ; ouvert
18	Cône : intensité de la couleur verte	Clair ; moyen ; foncé
19	Bractée : taille	Petit ; moyen ; grand
20	Bractée : rapport longueur/largeur	Petit ; moyen ; grand
21	Bractée : longueur du sommet	Court ; moyen ; long

Ces observations ont été réalisées à différents moments de maturité. Un herbier (*Annexe*) a été réalisé en fin de côneaison. Les résultats correspondant aux observations des treize stations sont présentés dans le Tableau 7. Chaque couleur correspond spécifiquement à une partie de la plante et le code couleur est rappelé en légende de chaque tableau. Pour chaque station, l'analyse phénotypique a été réalisée sur une seule année, sur de nombreux échantillons afin d'éliminer les biais.

Tableau 7 : Description morphologique des houblons de Corse spontanés

	Caractéristiques morphologiques	C7	C15	C18	C21	C24	C27
1	Coloration anthocyanique	<b>Fort</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Faible</b>
2	Taille	Moyen	Grand	Grand	Grand	Grand	Petit
3	Cloûre face supérieure	Absent	Absent	Moyen	Absent	Absent	Moyen
4	Coloration face supérieure	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
5	Si vert, intensité du vert	Foncé	Clair	Foncé	Clair	Foncé	Foncé
6	Floraison	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif
7	Taille	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
8	Longueur	<b>Long</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Moyen</b>
9	Longueur	Long	Court	Court	Court	Court	Moyen
10	Densité du feuillage	Dense	Moyen	Dense	Dense	Moyen	Moyen
11	Nombre de cônes/œud	Grand	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
12	Nombre total de cônes	<b>Grand</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>
13	Nombre total de cônes	Grand	Moyen	Moyen	Moyen	Petit	Grand
14	Maturité	Moyen	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif
15	Taille	Grand	Grand	Moyen	Grand	Moyen	Petit
16	Forme	Ovale large	Ovale moyen	Ovale moyen	Ovale moyen	Cylindrique	Ovale moyen
17	Ouverture des bractées	Ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert	Fermé	Peu ouvert
18	Intensité du vert	Clair	Moyen	Moyen	Moyen	Clair	Moyen
19	Taille	Grand	Moyen	Moyen	Petit	Moyen	Moyen
20	Ratio longueur/largeur	Moyen	Moyen	Moyen	Petit	Moyen	Moyen
21	Longueur du sommet	Court	Moyen	Moyen	Court	Court	Moyen

Les parties de la plante sont indiquées par couleur : tige principale ; Feuilles ; Fleurs ; Plante ; Tige secondaire depuis deuxième tiers de la plante ; Tige secondaire depuis le troisième tiers de la plante ; cônes ; bractées. En **gras** sont indiquées les modifications morphologiques majeures.

	Caractéristiques morphologiques	C28	C29	C31	C33	C35	C37	C39
1	Coloration anthocyanique	<b>Faible</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>
2	Taille	Petit	Petit	Petit	Moyen	Petit	Moyen	Grand
3	Cloûre face supérieure	Moyen	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
4	Coloration face supérieure	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
5	Si vert, intensité du vert	Foncé	Foncé	Foncé	Moyen	Foncé	Moyen	Foncé
6	Floraison	Tardif	Tardif	Tardif	Moyen	Tardif	Tardif	Tardif
7	Taille	Normal	Normal	Normal	Nain	Normal	Normal	Normal
8	Longueur	<b>Moyen</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>
9	Longueur	Long	Court	Court	Court	Court	Court	Court
10	Densité du feuillage	Moyen	Dense	Dense	Dense	Moyen	Moyen	Moyen
11	Nombre de cônes/nœud	Moyen	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
12	Nombre total de cônes	<b>Grand</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>
13	Nombre total de cônes	Grand	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Grand	Très grand
14	Maturité	Tardif	Tardif	Tardif	Moyen	Tardif	Moyen	Moyen
15	Taille	Petit	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Grand	Grand
16	Forme	Ovale moyen	Ovale étroit	Ovale étroit	Ovale moyen	Ovale moyen	Ovale moyen	Ovale moyen
17	Ouverture des bractées	Peu ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert	Ouvert
18	Intensité du vert	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
19	Taille	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
20	Ratio longueur/largeur	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
21	Longueur du sommet	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen

Les parties de la plante sont indiquées par couleur : tige principale ; Feuilles ; Fleurs ; Plante ; Tige secondaire depuis deuxième tiers de la plante ; Tige secondaire depuis le troisième tiers de la plante ; cônes ; bractées. En gras sont indiquées les modifications morphologiques majeures.

Afin de déterminer au mieux les différences et similitudes phénotypiques entre ces échantillons, une analyse statistique a été réalisée selon la méthodologie décrite dans la **Partie Expérimentale** située en fin du document. Le dendrogramme représentant ces résultats est donné en Figure 45.

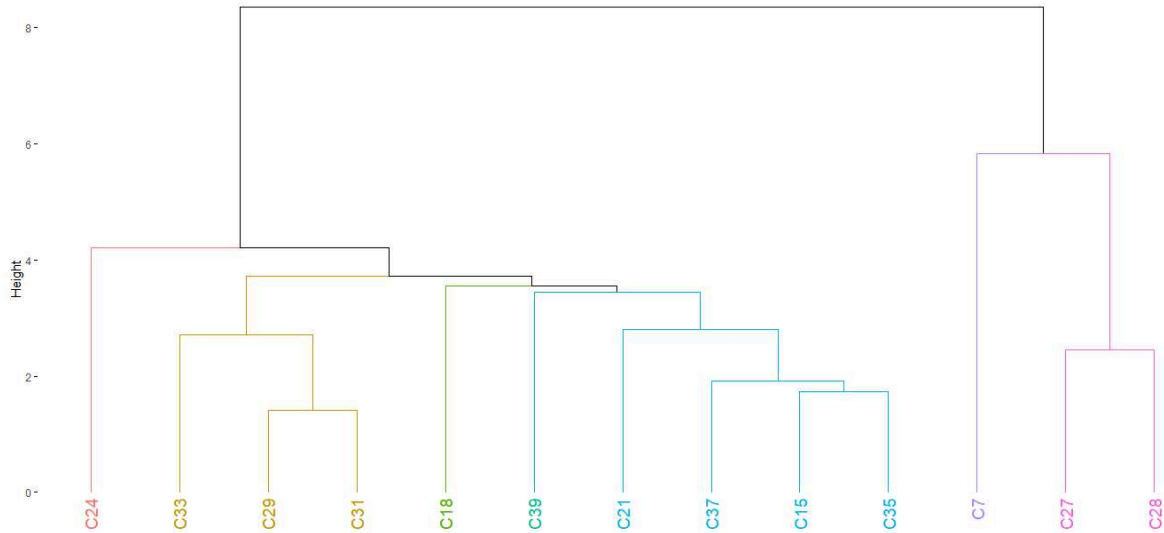


Figure 45 : Dendrogramme des caractères phénotypiques des houblons de Corse spontanés

Deux grands clusters résultent de cette analyse : les stations situées loin des côtes (C7, C27 et C28), d'une part et les houblons poussant dans les zones littorales de l'île, d'autre part. L'échantillon C7 correspond à la station de Corte. Les échantillons C27 et C28 correspondent respectivement aux stations d'Aleria-Corte 1 et d'Aleria-Corte 2 et sont localisées à mi-chemin entre Corte et la côte ; cette différenciation met en lumière un effet probable de l'altitude et de la proximité marine (climat, salinité) sur le polymorphisme du houblon de Corse. Les facteurs de différenciation identifiés entre ces trois stations et celles plus littorales sont la coloration rouge caractéristique d'une teneur significative en anthocyanes de la tige primaire, la longueur des tiges secondaires et le nombre de cônes. En effet, le Tableau 7 indique que les houblons des zones littorales de l'île ne possèdent pas de coloration anthocyanique au niveau de leur tige primaire, contrairement aux houblons de Corte (et dans une moindre mesure de C27 et C28). Il est connu que le rôle principal des anthocyanes dans la plante est la protection contre les pathogènes et les herbivores<sup>72</sup>. Cette coloration pourrait être causée par la présence d'agresseurs tels que *Tetranychus urticae*, le mildiou et l'oïdium dans les pourtours humides de Corte. La faible présence de ces agresseurs dans les zones littorales de Corse expliquerait à contrario l'absence de coloration anthocyanique. De plus, la station de Corte se différencie de toutes les autres par son microclimat plus humide au cours des mois de croissance du végétal



(pluviométrie supérieure à celle des zones littorales - Figure 46) et la présence de deux grands cours d'eau<sup>103</sup> que sont le Tavignano et la Restonica. Ce microclimat, limitant le stress hydrique chez les végétaux, conduirait à une seconde différenciation des houblons montagneux et littoraux : la longueur des tiges secondaires et le nombre de cônes.

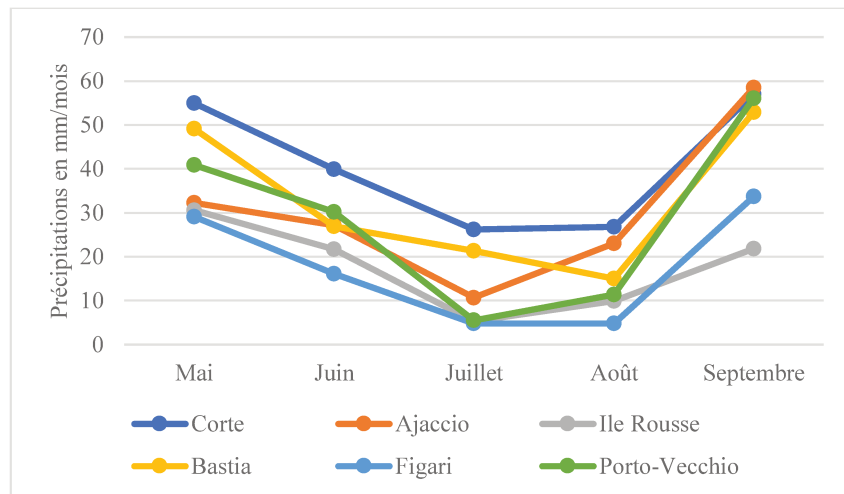


Figure 46 : Comparaison de la pluviosité (mm) de plusieurs stations corses<sup>104,105</sup>

Au sein du second groupe, C24 (Ajaccio) présente 40 % de dissimilarité par rapport aux autres échantillons (Figure 45). L'isolement géographique de la station pourrait être la cause de cette différenciation. Enfin, un sous-groupe est composé de C15, C18, C21, C35, C37, C39. Toutes ces stations sont situées à l'intérieur d'une poche de sédiments miocènes, comme l'illustrent la

Figure 25 (localisation des stations) et la Figure 26 (pédologie de la Corse). Cette observation met en lumière l'influence probable de la composition des sols sur le polymorphisme du houblon.

## II. Houblons de Corse mis en culture

La caractérisation morphologique des houblons de Corse mis en culture Corte et Canale a été réalisée en suivant le même protocole que supra. Les résultats correspondant aux observations sur les deux stations (Corte [C5] et Canale [C13]) ainsi que de leurs homologues spontanés (C7 et C15) sont présentés dans le Tableau 8. Pour chaque station, l'analyse phénotypique a été réalisée sur une seule année, sur de nombreux échantillons afin d'éliminer les biais.

Tableau 8 : Description morphologique des houblons de Corse mis en culture

	Caractéristiques morphologiques	C5	C7	C13	C15
1	Coloration anthocyannique	Absent	Fort	Absent	Absent
2	Taille	Grand	Moyen	Grand	Grand
3	Cloûre face supérieure	Absent	Absent	Absent	Absent
4	Coloration face supérieure	Vert	Vert	Vert	Vert
5	Si vert, intensité du vert	Clair	Foncé	Foncé	Clair
6	Floraison	Tardif	Tardif	Moyen	Tardif
7	Taille	Normal	Normal	Normal	Normal
8	Longueur	<b>Moyen</b>	<b>Long</b>	<b>Court</b>	<b>Court</b>
9	Longueur	Court	Long	Court	Court
10	Densité du feuillage	Dense	Dense	Moyen	Moyen
11	Nombre de cônes/nœud	Moyen	Grand	Moyen	Petit
12	Nombre total de cônes	<b>Moyen</b>	<b>Grand</b>	<b>Petit</b>	<b>Petit</b>
13	Nombre total de cônes	Grand	Grand	Moyen	Moyen
14	Maturité	Moyen	Moyen	Moyen	Tardif
15	Taille	Grand	Grand	Moyen	Grand
16	Forme	Ovale large	Ovale large	Cylindrique	Ovale moyen
17	Ouverture des bractées	Ouvert	Ouvert	Peu ouvert	Peu ouvert
18	Intensité du vert	Clair	Clair	Clair	Moyen
19	Taille	Grand	Grand	Grand	Moyen
20	Ratio longueur/largeur	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
21	Longueur du sommet	Court	Court	Moyen	Moyen

Les parties de la plante sont indiquées par couleur : tige principale ; Feuilles ; Fleurs ; Plante ; Tige secondaire depuis deuxième tiers de la plante ; Tige secondaire depuis le troisième tiers de la plante ; cônes ; bractées. En **gras** sont indiquées les modifications morphologiques majeures.

Afin de déterminer au mieux les différences et similitudes phénotypiques entre les échantillons apparaissant, une analyse statistique a été réalisée selon la méthodologie décrite

dans la *Partie Expérimentale* située à la fin du document. Le dendrogramme représentant ces résultats est donné en Figure 47.

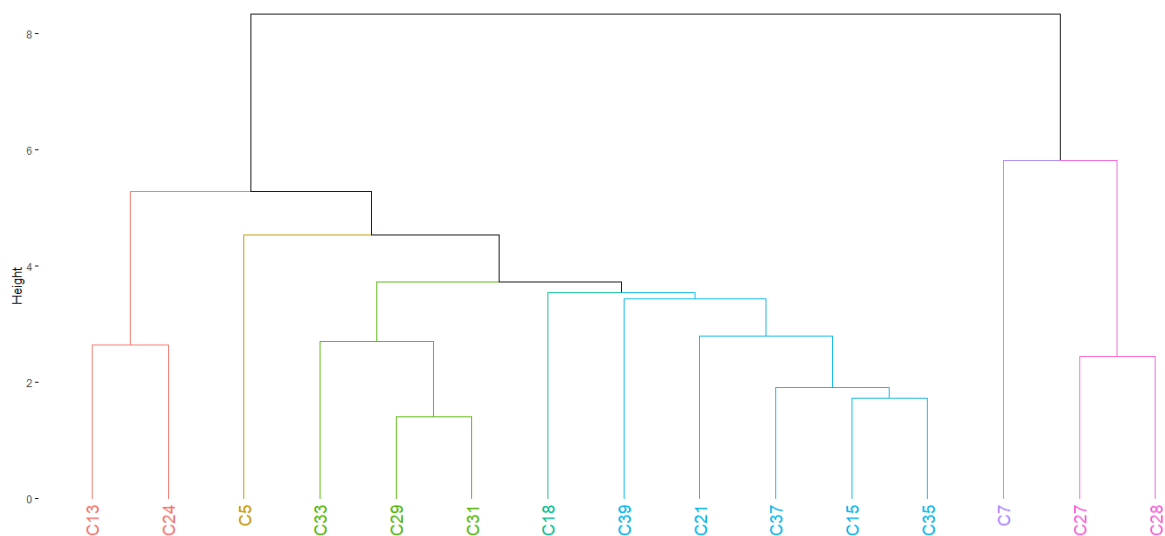


Figure 47 : Dendrogramme des caractères phénotypiques des houblons de Corse

L'échantillon de la station C5 (Corte cultivé) s'éloigne nettement de son homologue spontané (C7) après avoir été mis en culture près du littoral (houblonnière expérimentale Ribella). Cette particularité corrobore la théorie énoncée supra d'une différenciation entre les houblons poussant près ou loin du littoral. Le houblon de la station C13 (Canale cultivé) s'éloigne également de son homologue spontané (C15), mais aucun paramètre d'influence précis n'a pu être identifié. Tout de même, ces observations mettent en lumière un effet important de la mise en culture sur le polymorphisme du houblon de Corse.

### III. Les cultivars commerciaux

La caractérisation morphologique des cultivars commerciaux allemands a été réalisée en suivant le même protocole que supra. Cette étude concerne les cultivars transplantés de l'Allemagne au sol de Corse (houblonnière expérimentale Ribella) ainsi que leurs homologues demeurés sur leur sol d'origine (région du Tettngang). Les résultats correspondant aux observations des dix-huit échantillons sont présentés en *Annexes*. L'observation des cultivars Tettnganger, Smaragd et Cascade cultivés en Allemagne ou transplantés en Corse a été réalisée sur plus de cinq-cents échantillons afin d'éliminer les biais. La sous-colonne « année 0 » de la colonne « Corse » sert de blanc à la transplantation des houblons d'Allemagne vers la Corse. Les résultats obtenus, concernant l'analyse phénotypique, sont donc les mêmes que pour les échantillons demeurés sur le sol allemand (colonne : Tettngang – année 0). Ces observations confirment l'efficacité du blanc utilisé et permettent de déterminer que des modifications morphologiques commencent à apparaître dès l'année +1 de transplantation.

Après un an, les tiges principales des trois cultivars perdent leur coloration anthocyanique. Comme indiqué supra, le rôle principal des anthocyanes dans la plante est celui de la protection contre les pathogènes, les herbivores et les stress environnementaux<sup>72</sup>. La biosynthèse de ces anthocyanes se fait aux dépens de celle de certains composés prénylés tels que le xanthohumol ayant un rôle important dans les propriétés organoleptiques de *Humulus lupulus*<sup>74</sup>. Dans le cas d'une mise en culture destinée à la confection de bière, la perte des composés prénylés est donc à éviter. La présence de *Tetranychus urticae* Koch, oïdium et mildiou dans la région du Tettngang<sup>106</sup> pourrait expliquer la coloration des tiges principales des houblons poussant en Allemagne, par la biosynthèse d'anthocyanes en réponse à ces stress<sup>107</sup>. De plus, l'absence de ces attaques dans les régions littorales de Corse pourrait expliquer la disparition de cette coloration anthocyanique une année après la transplantation et l'année suivante également. En outre, comme Akula et Ravishankar l'ont montré en 2011<sup>108</sup>, les stress liés à la salinité des sols et aux embruns, chez les espèces végétales fragiles, conduisent parfois à une diminution des teneurs en anthocyanes ; la proximité littorale, et donc la forte salinité, du lieu de transplantation corse des houblons du Tettngang étaye cette théorie. Ces observations sont validées en année +2.

Deux autres modifications majeures des trois cultivars émergent après un an de transplantation (année+1) sur le sol corse ; il s'agit du raccourcissement des tiges secondaires et de la diminution du nombre de cônes sur les tiges secondaires. Ces deux modifications, tout comme la maturité précoce des cônes de Cascade transplanté, pourraient être dues aux stress

environnementaux fortement présents sur le littoral nord de la Corse, particulièrement les stress hydriques, salins et éoliens<sup>108-110</sup>. Toutes ces observations sont validées en année +2.

En outre, après deux ans de transplantation (année +2), la densité du feuillage diminue drastiquement pour les cultivars Tettanager et Cascade ; ce qui n'est pas le cas pour le cultivar Smaragd, cependant cette particularité pourrait s'expliquer par un feuillage très éparé dès l'année 0 qui empêcherait une diminution supplémentaire. La réduction de la densité du feuillage est également connue comme une réponse aux stress climatiques et étaye donc les observations précédentes<sup>110</sup>.

Pour la période de croissance du houblon de mai à septembre, les données bioclimatiques de la région du Tettang<sup>104,105</sup> mesurées entre 1999 et 2020 ont été comparées à celles de la zone de transplantation en Corse, à savoir Patrimonio. Le Tettang est soumis à de plus fortes précipitations que Patrimonio, respectivement comprises entre 90 et 130 mm/mois (histogramme bleu en Figure 48) et 10 et 54 mm/mois (histogramme bleu en Figure 49), de plus faibles températures, respectivement comprises entre 13 et 18°C (courbe rouge en Figure 48) et 16 et 24°C (courbe rouge en Figure 49), de puissants vents dans les deux cas entre 5 et 50 km/h (Figure 50 et Figure 52) et une plus faible exposition solaire, respectivement de 4 à 7 jours par mois (Figure 51) et de 10 à 20 jours par mois (Figure 53).

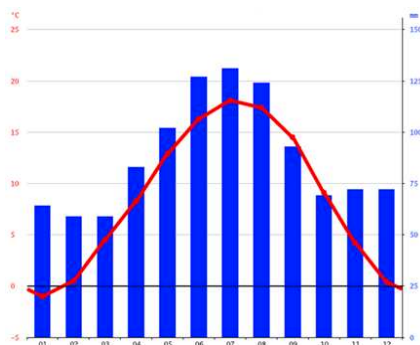


Figure 48 : Précipitations et T°C (Tettang)

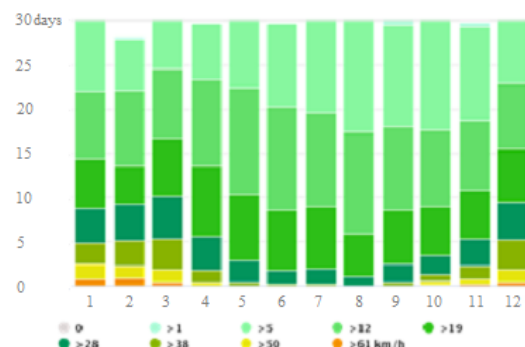


Figure 50 : Force des vents (Tettang)

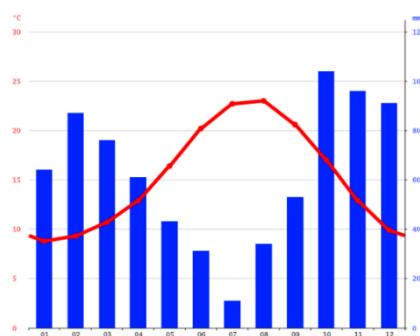


Figure 49 : Précipitations et T°C (Patrimonio)

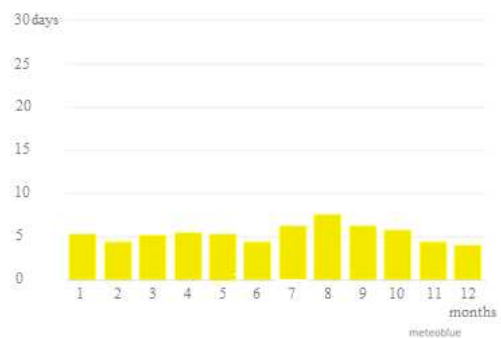


Figure 51 : Exposition solaire (Tettang)

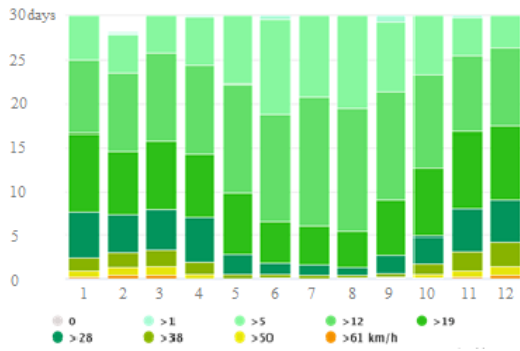


Figure 52 : Force des vents (Patrimonio)

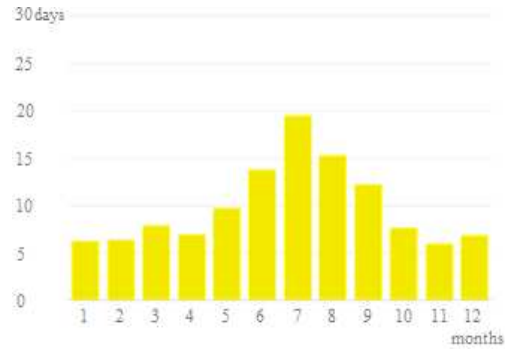


Figure 53 : Exposition solaire (Patrimonio)

Ces données bioclimatiques justifient le stress hydrique reporté chez les végétaux de la microrégion de Patrimonio. En effet, les fortes températures et expositions solaires ainsi que les faibles précipitations facilitent l'émergence de stress environnementaux chez les plantes fragiles. Or, ces particularités bioclimatiques ne se retrouvent pas dans la région du Tettngang où les houblons ne sont donc pas soumis aux stress bioclimatiques durant la saison de croissance.

## IV. Conclusion

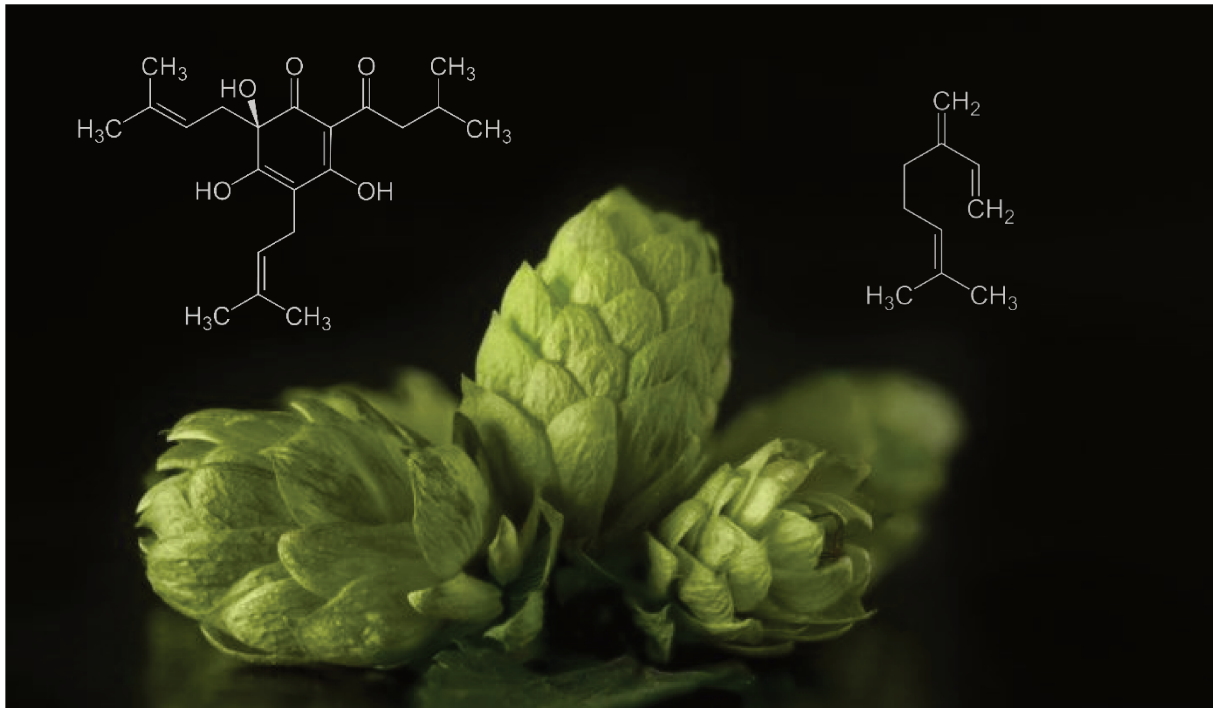
Un échantillonnage du houblon spontané représentatif de la diversité des sols et des microclimats corses a été mis en place au cours des trois années d'étude. En parallèle, une houblonnière expérimentale a été développée sur un site littoral corse et optimisée afin de répondre au mieux aux exigences environnementales de la microrégion. L'intérêt de cette houblonnière était de mettre en lumière (i) l'impact de la mise en culture sur la morphologie du houblon de Corse et (ii) l'impact du terroir corse sur la morphologie de cultivars commerciaux à la suite de leur transplantation. Les modifications de la composition chimique des échantillons corses après leur mise en culture et des cultivars commerciaux après leur transplantation est étudiée dans le chapitre suivant.

Une hybridation des cultivars de l'houblonnière avec du pollen de houblon de Corse spontané a conduit à l'obtention du premier hybride de houblon de Corse x Cascade. Une incompatibilité entre le houblon de Corse et les cultivars Smaragd et Tettmanger est apparue ; cette incompatibilité ne concerne pas le cultivar Cascade.

Les analyses morphologiques réalisées sur le houblon de Corse et sur les cultivars commerciaux transplantés sur le sol insulaire démontrent un fort impact environnemental et pédoclimatique sur le polymorphisme du houblon. De plus, cette étude met en exergue une influence de la proximité marine. En outre, le suivi morphologique réalisé sur les pieds transplantés d'Allemagne en Corse démontre un grand pouvoir d'acclimatation du houblon aux conditions de culture corses.

# CHAPITRE 4

## Aspect chimique



*Figure 54 : Cônes de houblon et composés organoleptiques majoritaires*

Ce chapitre représente la partie centrale de ces travaux doctoraux. Il explicite les expérimentations chimiques et statistiques menées sur les échantillons spontanés ou mis en culture et sur les cultivars commerciaux transplantés. Le double objectif est :

- la détermination du potentiel aromatisant du Houblon de Corse à travers l'analyse de ses fractions volatiles (huile essentielle).
- la détermination du potentiel amérisant du Houblon de Corse à travers l'étude quantitative des fractions lourdes du végétal (notamment, les teneurs en  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides).



# I. Composés volatils des cônes

## A. Validation de la méthode d'analyse par CPG-SM

Le houblon (*Humulus lupulus*) possède une huile essentielle à la composition chimique assez complexe et très variable selon les cultivars. Dans l'optique de donner sa juste place au Houblon de Corse dans le large spectre des profils existants, il est avant tout nécessaire de développer et de mettre en œuvre les méthodes pré-analytiques et analytiques sur les différents cultivars. La clé de nomenclature des échantillons est donnée dans le **Chapitre 2**. Les hydrodistillations des cônes des houblons commerciaux ont été réalisées selon le protocole décrit dans la **Partie Expérimentale**. Cette étude a pour but la validation des méthodes préparatives et analytiques sur des cultivars connus, à savoir V1-V4, V7, V10 et V13-V17 (Tableau 5), chacun prélevé sur sa terre d'origine.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de ces houblons commerciaux, réalisée par CPG-DIF et CPG-SM (les paramètres analytiques sont donnés dans la **Partie Expérimentale**), a permis l'identification de 63 métabolites, représentant un pourcentage d'identification compris entre 73,1 et 94,7 %. Les rendements obtenus en huile essentielle varient entre 0,3 et 1,6 %. Le Tableau 9 indique la composition de ces huiles essentielles (en %) principalement constituées de composés terpéniques hydrocarbonés tels que le myrcène (14,5-65,7 %), le (E)- $\beta$ -farnésène (jusqu'à 27,1 %), l' $\alpha$ -humulène (jusqu'à 16,2 %) et le (E)- $\beta$ -caryophyllène (2,5-8,8 %). Parmi les composés oxygénés identifiés, l'époxyde d'humulène et le déc-4-énoate de méthyle se trouvent parfois en fortes teneurs. L'huile essentielle de Cascade V2, par exemple, est constituée à 18,1 % d'époxyde d'humulène. De manière générale, ces huiles essentielles présentent des profils chromatographiques qualitativement similaires avec des variations au niveau quantitatif.

Les compositions chimiques des huiles essentielles des cultivars American Cascade (V1-V3), Brewers gold (V13) et Magnum (V17) sont en accord avec les données rapportées dans la littérature<sup>42,52-56,111</sup>. En effet, les valeurs observées pour le myrcène, à savoir 44,6 % de moyenne pour V1-V3, 60,7 % pour V13 et 32,5 % pour V17 sont analogues à celles trouvées dans la littérature, respectivement égales à 48,9 %, 51,4 % et 27,3 %. Une telle similarité se retrouve également pour le (E)- $\beta$ -caryophyllène, le (E)- $\beta$ -farnésène et l' $\alpha$ -humulène<sup>42,52-56,111</sup> qui sont les composés majoritaires de ces huiles.

Tableau 9 : Composition des huiles essentielles des variétés commerciales

No	Composés identifiés	Ir litt <sup>a</sup>	Ir a <sup>b</sup>	Ir p <sup>c</sup>	V1	V2	V3	V4	V7	V10	V13	V14	V15	V16	V17
<b>Hydrocarbonés</b>															
1	$\alpha$ -Pinène	917	931	1022	0,5	0,1	0,2	0,5			0,1	0,1	0,8	0,8	0,2
2	$\beta$ -Pinène	964	970	1110	0,9	1,3	1,2	2,0	1,5	1,3	0,8	0,4	0,6	0,6	0,6
3	Myrcène	981	976	1159	65,7	14,5	53,7	50,3	46,1	40,6	60,7	30,4	28,7	29,5	32,5
4	p-Cymène	1010	1011	1268	0,1	0,1	0,3	0,3	1,1	0,7	0,1	0,6		2,7	1,6
5	Limonène	1029	1020	1199	1,2	0,7	0,7	0,9	0,1	0,6	0,7	0,1	2,6	0,6	0,1
6	(Z) $\beta$ -Ocimène	1039	1024	1230	0,1	0,1	0,2	0,2	0,6	0,2	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1
7	(E) $\beta$ -Ocimène	1050	1034	1247	0,1	0,1		0,1		0,1	0,1				
8	$\alpha$ -Ylangène	1373	1375	1476	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,5	0,3	0,7			0,4
9	$\alpha$ -Copaène	1381	1379	1488											
10	Isocaryophyllène	1402	1407	1571	0,2	0,5						0,1	0,1	0,1	0,1
11	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1414	1424	1591	2,5	5,3	6,4	4,8	6,1	5,7	5,5	8,8	4,9	4,9	5,4
12	$\beta$ -Copaène	1432	1431	1581	0,1				0,2	0,2		0,3	0,1		
13	(E)- $\alpha$ -Bergamotène	1432	1432	1580	2,2	1,9	0,2	0,4	0,3	0,8	0,1	0,1	1,0		0,1
14	(E)- $\beta$ -Farnesène	1445	1448	1661	7,3	15,1	16,3	6,8	4,1	20,2		27,1	13,3	13,2	25,0
15	$\alpha$ -Humulène	1455	1456	1665	2,2	1,7	0,5	9,2	16,2	8,2	11,9	0,1		0,1	0,1
16	4,5-Di- <i>epi</i> -aristolochène	1469	1467	1665	0,2		0,1	0,1	0,1		0,4	0,3	0,9	0,3	0,8
17	$\gamma$ -Muuroloène	1477	1471	1681	0,7	0,3	0,1	0,2	0,2	0,9	0,4	1,1		0,3	0,4
18	$\gamma$ -Himachalène	1479	1479	1693	0,1		1,2		0,2	0,1	0,7	0,6	0,3		0,4
19	Germacrène D	1480	1480	1704	0,6		0,4			0,4			0,2	0,3	
20	$\beta$ -Sélinène	1485	1483	1712	0,4	2,1	1,2	1,2	5,1	0,6	0,3	1,2	0,3	0,2	0,5
21	Zingiberène	1493	1489	1717					0,4		0,1		0,8	0,1	0,7
22	Valencène	1495	1497	1719	0,2	1,3	0,7	1,1	0,5	0,1	0,1	0,7	0,9	0,7	0,2
23	$\alpha$ -Sélinène	1505	1494		0,1	0,1	0,8	0,4	0,5	0,5	0,3	1,5	0,4	0,8	0,7
24	(E,E) $\alpha$ -Farnesène	1506	1498	1744	0,3	0,7	0,1	0,5	0,1			0,6	0,6	0,4	0,3
25	$\gamma$ -Cadinène	1513	1507	1752		0,1	1,3	0,7	1,3	0,1	0,6	2,3		0,6	0,6
26	Calamenène	1522				0,2	0,1	0,1	0,8	0,8		0,1			
27	$\delta$ -Cadinène	1524	1516	1752	0,1		0,1		0,1	0,1	0,1	1,2	0,2	0,2	0,2
28	$\gamma$ -Bisabolène	1529			0,1	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1				
29	$\alpha$ -Cadinène	1538	1535	1743	0,3	0,1	0,2	0,3		0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
<b>Alcools</b>															
30	Linalol	1087	1081	1544	0,6	1,2	0,1	1,0	1,5	0,4	0,1	0,1	0,7	0,1	0,1
31	$\alpha$ -Terpinéol	1179	1179	1700	0,1		0,1	0,1		0,1			0,1	0,1	0,2
32	Caryolan-8-ol	1562	1559	2044	0,6	0,6	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,9	0,9	0,4
33	Viridiflorol	1593	1591	2089					1,0	1,3		4,6			
34	Humulol	1601	1588	2165								0,3	0,1	0,1	0,2
35	Zingibérénol 1	1614	1599	2109	0,1	1,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,5	0,7	0,6	0,8
36	Zingibérénol 2	1620	1613	2190	0,1	0,6	0,1	0,1	0,1			0,5	0,3	0,3	0,6
37	$\alpha$ -Cadinol	1642	1641	2231		0,1	0,5	0,4	0,1	0,2	0,2				0,1
38	Eudesm-11-en-4 $\alpha$ -ol	1651	1642	2241		0,2	0,1	0,1		0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1
39	$\alpha$ -Bisabolol	1680	1672	2217	0,1	0,1				0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1
<b>Cétones</b>															
40	Nonan-2-one	1091	1070	1388	0,6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1
41	Décan-2-one	1172	1176	1495			0,1	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
42	Undécan-2-one	1291	1273	1592	0,3	0,5	0,6	0,6	1,0	1,7	0,4	0,2	0,1	0,2	0,4
43	Dodécan-2-one	1371	1385	1711			0,1	0,1	0,1	0,1				0,6	
44	Tridécan-2-one	1496	1480	1809		0,6	0,1	0,1		0,2		0,1			0,2

45	Tétradécan-2-one	1576	1580	1909	0,1	1,3	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,5	0,2	0,1	
46	(Z) Pentadéc-6-èn-2-one	1652	1647						0,1	0,1		0,2	0,1	0,1	0,1	
<b>Aldéhydes</b>																
47	Nonanal	1084	1083	1394		0,2	0,5	0,4	0,2		1,0	0,2			0,4	
48	Décanal	1184	1185	1498		0,1	0,1			0,1	0,1	0,1				
49	Géranial	1242	1244	1731	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,5
<b>Esters</b>																
50	Isobutyrate de 2-méthylbutyle	989	1004	1176			0,1	0,3	0,1	0,1		0,1	0,5	0,1	0,1	
51	Héptanoate de méthyle	1006	1010		0,1	0,1	0,6	1,8	0,3	0,1	1,0	0,6	0,8	0,8	0,4	
52	6-méthylheptanoate de méthyle	1070	1068	1338	0,3	0,1	0,2	0,2	0,5	0,6	0,4	0,1	0,3	0,2	0,4	
53	Octanoate de méthyle	1110	1110	1396	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7	0,1	0,7	0,1	0,1	0,1	0,1	
54	Nonanoate de méthyle	1210	1205			0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1	
55	Déc-4-énoate de méthyle	1290	1290	1611	0,3		0,6	0,6	1,7	0,7	1,8		0,1		0,3	
56	Géraniate de méthyle	1301	1301	1680			0,5	0,3	0,5	0,2	0,1	0,4		0,1	0,1	
57	Décanoate de méthyle	1307	1307	1581			0,1		0,1	0,1	0,4	0,1			0,1	
<b>Autres</b>																
58	Oxyde de caryophyllène	1571	1576	1980		8,2				0,3		1,1	0,2	5,1	2,2	
59	Époxyde d'humulène I	1593	1593	2040	0,2	18,1	0,7	1,0			0,1	0,1	8,4	8,3	7,3	
60	Époxyde d'humulène II	1602	1601	2044	0,9	0,3	0,1					0,2		0,1		
61	Époxyde d'humulène III	1626	1626		0,4	1,9	0,2	0,8		0,1	0,1	0,1	0,9	0,9	1,1	
62	Oxyde d'aromadendrène	1650	1647	2002	0,5	0,4		0,1				0,7	0,2			
63	Acide hexadécanoïque	1961			0,6	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,4	
<b>% d'identification</b>					<b>92,1</b>	<b>82,3</b>	<b>92,5</b>	<b>89,4</b>	<b>94,7</b>	<b>90,8</b>	<b>91,9</b>	<b>90,1</b>	<b>73,1</b>	<b>77,1</b>	<b>87,8</b>	
<b>Rendement en HE en %</b>					<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	<b>1,0</b>	<b>1,2</b>	<b>0,3</b>	<b>1,6</b>	<b>1,6</b>	<b>1,6</b>	<b>1,6</b>	<b>1,6</b>	

*a* : indices de rétention sur colonne apolaire rapportés dans la littérature<sup>112</sup> ; *b* : indices de rétention expérimentaux sur colonne apolaire ; *c* : indices de rétention expérimentaux sur colonne polaire.

De plus, des proportions importantes en oxydes, notamment en époxyde d'humulène et en oxyde de caryophyllène, sont observées dans les huiles essentielles de Cascade (V2), Opal (V15), Saaz (V16) et Magnum (V17). Sur cet aspect, des études ont montré que la présence de ces oxydes pourrait être due à des altérations hydrothermiques de l'humulène et du (E)- $\beta$ -caryophyllène, ce qui correspondrait également aux données relevées dans la littérature<sup>42,52-55</sup>.

En outre, la comparaison de la caractérisation chimique des huiles essentielles des cultivars commerciaux de houblon avec les données relevées dans la littérature a permis de vérifier l'efficacité des méthodes de prélèvement et d'analyse des huiles essentielles que nous avons adoptées. Ce protocole peut être considéré comme valide et reproductible, et ainsi être appliqué à l'analyse des huiles essentielles des houblons de Corse.

## B. Houblons de Corse spontanés

La clé de nomenclature des échantillons de houblon poussant de manière spontanée en Corse est donnée dans le *Chapitre 2*. Les hydrodistillations des cônes ont été réalisées dans les mêmes conditions que les cultivars supra, selon le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*.

Les rendements en huile essentielle des houblons de Corse spontanés sont tous inférieurs à 0,1 %. Comme indiqué dans le Tableau 10, l'analyse par CPG-DIF et CPG-SM a conduit à l'identification de 63 composés volatils, représentant un taux d'identification compris entre 67,3 et 97,6 %. Notons que les houblons poussant spontanément en Corse présentent une composition chimique similaire sur le plan qualitatif, mais avec de fortes singularités sur le plan quantitatif. En effet, des variations significatives apparaissent notamment au niveau des teneurs en  $\beta$ -sélinène [composé 20] et héptanoate de méthyle [composé 51] comme le montre le cercle des corrélations en Figure 55. L'ACP (Figure 56) de laquelle découle le cercle des corrélations sépare tous les échantillons, ce qui correspond à une grande diversité au niveau des stations. L'ACP met également en lumière une homogénéité entre les échantillons issus de la même station ; les exemples les plus significatifs sont les stations 7 (Ajaccio, C23-C25), 9 (Porto-Pollo, C29 ; C30), 12 (Urbino, C35 ; C36) et 14 (Venzolasca, C39 ; C40). Cette homogénéité ne s'applique pas à toutes les stations : les échantillons des stations 4 (Canale spontané, C14-C16), 13 (Lucciana, C37 ; C38) et 8 (Aleria, C26-C28) diffèrent grandement au niveau quantitatif, ce qui sous-entend un fort impact des conditions environnementales sur les teneurs en composés volatils des cônes. Un échantillonnage plus approfondi et sur plusieurs années est nécessaire pour une identification de ces facteurs environnementaux.

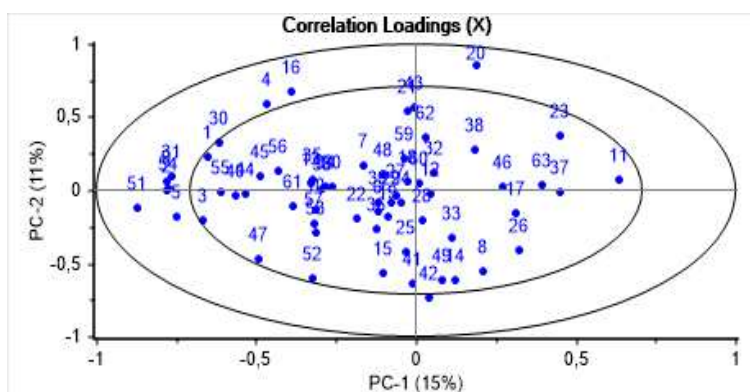


Figure 55 : Cercle des corrélations de l'ACP de la Figure 56

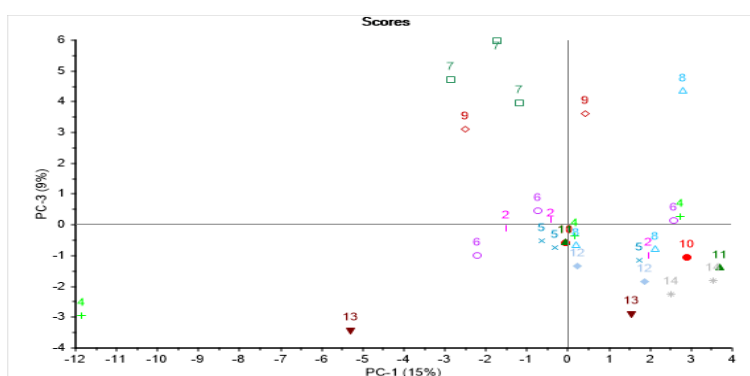


Figure 56 : ACP de la composition chimique en volatils des houblons de Corse spontanés

Tableau 10 : Composés identifiés par CPG-DIF et CPG-SM dans les huiles essentielles des houblons de Corse spontanés

No	Composés identifiés	Ir litt <sup>a</sup>	Ir a <sup>b</sup>	Ir p <sup>c</sup>	C7	C8	C9	C10	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C35	C36	C37	C38	C39	C40				
<b>Hydrocarbonés</b>																																							
1	$\alpha$ -Pinène	917	931	1022			0,1	0,1													0,1				0,1														
2	$\beta$ -Pinène	964	970	1110	0,3	0,1	0,1	0,4		0,1	0,2	0,2		0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2		0,1	0,2	0,3	0,1	0,2		0,2	0,4		0,1	0,4							
3	Myrcène	981	976	1159	6,7	1,7	11,9	0,7	21,6	1,0		4,1	24,7	5,4	8,1	0,1	19,5	20,1	19,4	18,2	12,7	10,6	5,1	16,7	25,7	7,1	15,2	0,9	16,7	21,9	0,7	1,1	26,7	0,4	0,6				
4	p-Cymène	1010	1011	1268	0,1		0,1	0,1										0,1							à														
5	Limonène	1029	1020	1199	0,1	0,1	0,1	0,4				0,2	0,3	0,1	0,2		0,2	0,1	0,1		0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2		0,2	0,2			0,3						
6	(Z) $\beta$ -Ocimène	1039	1024	1230	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1				0,1	0,3	0,2		1,0	0,4	0,3	0,3	0,3				0,2	0,2	0,4	1,0	0,1	0,4		0,1	0,1	0,1					
7	(E) $\beta$ -Ocimène	1050	1034	1247	0,2		1,0	0,2													0,1	0,5	0,7						0,5		0,1	1,2							
8	$\alpha$ -Ylangène	1373	1375	1476		0,1	0,1	2,0	0,1	0,7	0,8	0,9	0,3	0,7	0,8	0,3	0,7	0,3	0,3	0,1	0,4		0,1	0,4	0,1	0,6	0,5	0,2	0,5	0,7	0,7	0,4	0,1	0,1	0,5				
9	$\alpha$ -Copaène	1381	1379	1488	0,1	0,1			0,7	0,1	0,1				0,1	0,1																	0,2	0,1					
10	Isocaryophyllène	1402	1407	1571	0,5	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	5,3	1,1			0,1		0,1	0,2	0,2	4,9	0,1			0,1	5,2			0,1			0,1	0,1	5,9	0,2					
11	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1414	1424	1591	8,8	10,8	9,0	11,8	4,1	11,7	0,3	2,7	8,3	16,7	13,0	11,3	12,0	5,2	5,0	1,1	13,0	13,8	17,1	5,8	0,5	17,9	14,6	16,6	10,8	13,8	15,2	12,3	0,7	28,4	17,9				
12	$\beta$ -Copaène	1432	1431	1581	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,4	0,1	0,5	0,4	1,4	0,7	1,1	1,3	1,3	0,4		0,6	0,4	0,1	0,4	0,2	0,5		0,5	0,5	0,3		0,2					
13	(E)- $\alpha$ -Bergamotène	1432	1432	1580	0,2	0,2	0,1		0,6	0,2	0,1	0,1	0,1		0,2			1,4	1,7		0,2		0,3		0,1		0,1					0,5		0,2					
14	(E)- $\beta$ -Farnesène	1445	1448	1661	0,3	2,2	3,6	2,5	3,2	13,8	18,4	1,7	0,3	26,6		2,7	20,0					18,2	25,1	1,5	3,4	2,3	0,1	6,7	9,1	14,4	16,1	18,4	16,7	22,7	4,4	2,3			
15	$\alpha$ -Humulène	1455	1456	1665	5,4	2,4	2,0	0,9	17,7	26,6	0,1	11,7	0,5	17,8	24,9	12,5	16,8	18,3	18,0	15,7	15,8	15,1	2,8	0,1	7,2	28,8	20,2	0,5	22,6	23,3	25,4	14,5	4,4	0,1	0,8				
16	4,5-Di- <i>epi</i> -aristolochène	1469	1467	1665	1,2	0,5	4,3	3,7	4,7	0,1	0,2	2,3	2,8	0,1	0,5	2,3	0,1	2,0	0,3	2,3	0,3	0,4	0,5	0,2	0,2	0,4	0,4	2,4	0,3	0,3	0,1	0,3	1,2	0,7	4,1				
17	$\gamma$ -Muuroolène	1477	1471	1681						1,8	1,5	1,8		0,4			0,3	1,7	3,3	0,2	1,9	1,3	3,7	1,7	0,3	2,7		1,1	1,5	0,3	2,1	0,1	4,7						
18	$\gamma$ -Himachalène	1479	1479	1693	1,4	4,5			1,3	0,2	0,1	7,7	6,1	1,7	2,9	1,4	1,3	0,2	0,2	0,3	1,4	0,9		4,1	1,1	1,9	2,1	1,1	1,0	0,8	1,8	1,3	1,0						
19	Germacrène D	1480	1480	1704																												3,8	2,3						
20	$\beta$ -Sélinène	1485	1483	1712	26,8	15,7	26,6	23,4	0,5	1,6	1,5	3,6	12,2	1,8	2,6	15,3	1,6	6,7	7,0	6,4	4,8	0,6	5,3	8,8	7,3	6,1	1,5	10,4	0,5	1,1	3,0	3,9	1,3	21,9	5,5				
21	Zingiberène	1493	1489	1717	25,9	15,6	25,7		0,3	1,6	2,9	0,2	18,3	1,4	5,8	5,3	2,0	13,7	9,6	16,2	7,7	1,1	12,4	27,8	16,7	2,3	7,1	4,7	0,7	0,9	3,3	7,5	3,6		17,0				
22	Valencène	1495	1497	1719					0,7	2,8	0,3			0,9	1,5	1,5	0,9	3,1	6,4	4,6	0,1	0,4	0,4	3,1	4,1	0,8	0,4	0,4	0,4	0,4	0,9	0,3	0,5		0,7				
23	$\alpha$ -Sélinène	1505	1494		0,2	20,9	0,5	23,6	0,9	2,3	3,0	1,2	0,3	1,1	7,7	2,3	1,2	1,3	1,3	1,2	0,9	0,1	18,1	2,3	1,1	10,0	9,2	16,4	0,2	1,4	1,6	0,1	0,5	20,7	20,1				
24	(E,E) $\alpha$ -Farnesène	1506	1498	1744	0,1				0,4	0,1	0,1	0,4		0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,3	0,1		0,1	0,4		1,0	0,1	0,2	1,1			0,3	0,1	0,1	0,5				
25	$\gamma$ -Cadinène	1513	1507	1752	0,1	0,5	0,4	0,4	0,4	1,1	1,1	0,2	0,9	1,6	1,2	1,5	2,3	2,1	1,8		1,7	1,3	0,9	2,9	0,5	0,2	0,1	0,4	2,3	0,1	0,2	1,5	1,0	0,5	0,1				
26	Calamenène	1522							0,1	2,3	1,3	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1		0,2	0,1	2,5	0,6	0,1	0,1	2,0	0,1		2,6	2,9	0,1	0,1	0,1	0,1	1,1				
27	$\delta$ -Cadinène	1524	1516	1752	0,1		1,3	1,0	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	3,1	0,1		0,2	0,1	0,1	1,9	0,2	0,1	0,1	0,2	2,4	0,1	1,7	0,5	0,2		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1				
28	$\gamma$ -Bisabolène	1529			0,1	0,1	0,1	0,1		1,5	2,1		0,1	0,3	0,2	0,1	0,7	1,9	1,9	2,3	0,2	0,2	3,4	2,0	1,8	0,3	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1		0,1	0,1				
29	$\alpha$ -Cadinène	1538	1535	1743	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	1,0	0,2	0,7	0,1		0,7	0,1	0,4	1,8	1,9	2,0	0,1	0,3	3,4	2,0	1,5	0,1	0,1		0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1			
<b>Alcools</b>																																							
30	Linalol	1087	1081	1544	0,6	0,2	0,4	1,2	0,7	0,1	0,1		0,1	0,3	0,4	0,1	0,4	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3		0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,4				
31	$\alpha$ -Terpinéol	1179	1179	1700	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	0,1	0,1		0,1		0,5	0,1		0,1	0,2	0,3					0,1						0,1	0,1	0,1						
32	Caryolan-8-ol	1562	1559	2044	0,2	0,1	0,1	0,2	0,7	0,1	0,6	0,8	0,2	0,3	0,2	0,4	0,9	0,1	0,1	0,4	0,1	0,5	0,2	1,4		0,4		0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	3,4					
33	Viridiflorol	1593	1591	2089						0,2	1,4	0,4		0,2	2,7	0,5	0,2				0,3	0,2	0,1			1,1	0,3	0,1	0,4	0,6	1,8	4,0	0,3	0,1	0,1				
34	Humulol	1601	1588	2165	0,8	1,2	0,1	0,1	8,4	1,8	11,3	16,6		0,9	2,6	0,4	0,4	0,5	0,4	0,1	0,4	0,7	0,1	0,3	0,1	0,4	0,3	0,4	0,4	0,1	0,2	0,5	0,2	1,3	1,6				

35	Zingibérénol 1	1614	1599	2109	0,1	0,3	0,1	0,1	0,7	0,1	0,4	1,2	0,8	0,3	0,3	0,1	0,3	0,3	0,3	0,5	0,2		0,4	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1		0,1	0,2	0,5	0,1	0,1	0,2	
36	Zingibérénol 2	1620	1613	2190	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,4	0,7	0,4	0,1		0,4	0,1	0,4	0,3	0,2	0,3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2		0,2	0,2		0,2	0,2	0,4	0,2	
37	$\alpha$ -Cadinol	1642	1641	2231	2,2	2,6	1,6	2,8	1,3	3,9	2,1	1,3	3,8	1,7	2,2	2,5	1,1	0,7	0,8	0,9	1,9	0,9	3,6	2,6	0,9	4,0	3,5	1,9	0,7	1,6	1,9	4,5	1,3	2,2	3,3	
38	Eudesm-11-en-4 $\alpha$ -ol	1651	1642	2241	3,1	0,9	2,4	3,1	0,1	1,1	1,7	0,1	2,6	1,9	1,1	0,8		0,3	0,5		1,1	1,4	3,4	0,6	2,4		1,3	0,8	0,1	1,8	1,1	1,8	0,4	3,4		
39	$\alpha$ -Bisabolol	1680	1672	2217	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,4	0,4	0,4		0,3	0,2		0,6	0,5	0,5	0,2	0,3	0,9	0,8	0,3		0,2	0,1	0,2		0,4	0,3	0,2	0,1	0,1	
<b>Cétones</b>																																				
40	Nonan-2-one	1091	1070	1388	0,1		0,1		0,4			0,2				0,1		0,4		0,2						0,7		0,4	0,1			0,7				
41	Décane-2-one	1172	1176	1495		0,1			0,3	0,3	0,5		0,2	0,3		0,1	0,6	0,3			0,3	0,4	0,4	0,4	0,5	0,3	0,6		0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	
42	Undécane-2-one	1291	1273	1592	0,3	0,1	0,3	0,2	0,8	2,6	2,8		2,7	3,0	0,8	0,1	1,5	1,1	0,8	1,1	2,9	1,4	1,4	1,3	1,8	1,5	1,8	0,8	2,0	1,5	1,6	1,7	2,1	0,3	0,9	
43	Dodécane-2-one	1371	1385	1711	0,2	0,1	1,1	0,1		0,1		0,9	0,3		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1		0,1		0,1		0,5			0,1		0,5	0,1		
44	Tridécan-2-one	1496	1480	1809						0,3																							0,2			
45	Tétradécane-2-one	1576	1580	1909	0,3	0,1			0,2						0,2	0,1	0,2	0,4	0,2										0,1	0,1	0,1					
46	(Z) Pentadéc-6-èn-2-one	1652	1647		0,8	2,5		0,7		0,1	0,7	0,9	0,8	0,1			0,1	0,2	0,4	0,1	0,7	1,5	0,2	0,7	1,0	0,8	0,1	1,2	1,1	1,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	
<b>Aldéhydes</b>																																				
47	Nonanal	1084	1083	1394	0,1	0,1	0,1		0,7	0,4	0,2		0,1	0,2	0,7		0,6	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,4	0,6	0,2	0,2		0,2	0,2	0,7	0,5	0,1	0,1		
48	Décanal	1184	1185	1498			0,1	0,1			0,1		0,1		0,1		0,1	0,1														0,1				
49	Géranial	1242	1244	1731	0,1	0,1	0,1		0,3	0,8	0,1		0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,1	0,2	0,4	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	
<b>Esters</b>																																				
50	Isobutyrate de 2-méthylbutyle	989	1004	1176	0,1	0,1	0,1		0,2		0,1		0,1								0,3	0,1					0,1		0,5	0,1	0,1					
51	Heptanoate de méthyle	1006	1010		0,1	0,1	0,1		0,9	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,4		0,2	0,7	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5	0,1	0,3		0,2	0,3			0,4			
52	6-méthylheptanoate de méthyle	1070	1068	1338			0,1		0,4	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	0,6		0,5	0,3	0,2		0,5	0,4	0,3	0,3	0,6	0,2		0,1	0,3	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1		
53	Octanoate de méthyle	1110	1110	1396			0,1		0,1	0,1		0,2	0,1	0,3		0,1		0,3	0,2	0,2			0,1	0,2	0,1	0,1		0,2	0,1	0,1	0,1	0,6	0,1	0,2		
54	Nonanoate de méthyle	1210	1205		0,1		0,1		0,6			0,1	0,2		0,1		0,1	0,1			0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	
55	Déc-4-énoate de méthyle	1290	1290	1611	0,3	0,1	0,3	0,2	1,2	0,5	0,1	1,0	0,7	0,1	0,8	0,1	0,3	0,6	0,6	0,4	0,5	0,1	0,2	0,4		0,4	0,5	0,1		0,3	0,2	0,4	1,8	0,4	0,7	
56	Géraniate de méthyle	1301	1301	1680	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1		0,2	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,1		0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1			
57	Décanoate de méthyle	1307	1307	1581			0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,1		0,1	0,1		0,1	0,1				0,1		0,1	0,1	0,4	0,1	0,1		
<b>Autres</b>																																				
58	Oxyde de caryophyllène	1571	1576	1980	0,1	3,7	0,1	2,5	3,9	0,2	3,8	0,1	0,1		1,2		0,3	0,1	0,5	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2		0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,7	2,6	0,1	1,2		
59	Époxyde d'humulène I	1593	1593	2040		0,1	1,1	1,1	0,1	0,6	0,3	0,4	0,1	0,2	0,5		0,2	0,1	0,6	0,4	0,1		0,8	0,3	0,4		0,4	0,4	0,2						0,1	
60	Époxyde d'humulène II	1602	1601	2044	0,8	0,1	0,1	0,1		0,4	0,1	0,1		0,1		0,3	0,5	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,5		0,1	0,1	0,1	0,1	
61	Époxyde d'humulène III	1626	1626		0,1	0,4	0,3	0,3	1,2	0,3	1,5	0,3	0,2	0,2	0,2		0,2	0,2	1,5	0,2	0,1	0,3	0,4		0,3	0,4	0,1	0,6	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	
62	Oxyde d'aromadendène	1650	1617	2002	0,1		0,8		0,3	0,1					1,5													0,6							1,9	
63	Acide hexadécanoïque	1961			0,1	1,1	0,1	3,9	0,2	4,1	4,6	0,3	0,2	0,7	0,2	3,4	0,5	0,2		0,8	0,3	1,4	0,1	0,1	1,0		0,7	9,7	1,2		1,7	6,8	1,8	2,8	4,8	
<b>% d'identification</b>					<b>90,1</b>	<b>90,0</b>	<b>97,6</b>	<b>88,1</b>	<b>84,7</b>	<b>89,2</b>	<b>74,6</b>	<b>67,4</b>	<b>90,5</b>	<b>92,4</b>	<b>90,3</b>	<b>67,3</b>	<b>92,1</b>	<b>90,8</b>	<b>89,4</b>	<b>87,8</b>	<b>91,4</b>	<b>84,7</b>	<b>92,3</b>	<b>93,7</b>	<b>90,8</b>	<b>94,1</b>	<b>94,2</b>	<b>80,8</b>	<b>84,7</b>	<b>95,1</b>	<b>91,2</b>	<b>92,8</b>	<b>88,9</b>	<b>95,2</b>	<b>92,7</b>	

*a* : indices de rétention sur colonne apolaire rapportés dans la littérature<sup>112</sup> ; *b* : indices de rétention expérimentaux sur colonne apolaire ; *c* : indices de rétention expérimentaux sur colonne polaire.

En outre, l'analyse statistique comparative de tous les échantillons (houblons corses et cultivars commerciaux) met en lumière une très forte différenciation entre les deux groupes (Figure 57) : (i) en rouge, le groupe composé de tous les cultivars commerciaux et (ii) en jaune, celui composé de tous les houblons de Corse.

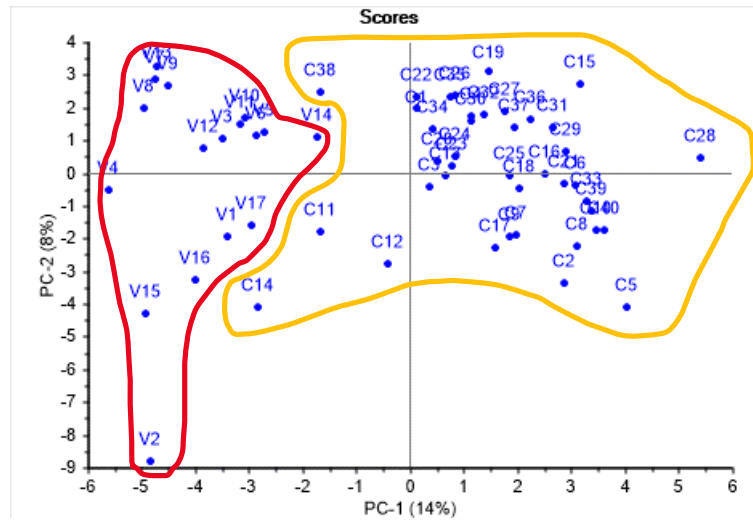


Figure 57 : ACP de la composition chimique en volatils de tous les échantillons

Comme l'illustre la Figure 58, les houblons de Corse semblent surtout s'éloigner des cultivars commerciaux étudiés par leurs teneurs en  $\beta$ -pinène [composé 2], myrcène [composé 3] et  $\alpha$ -Cadinol [composé 37].

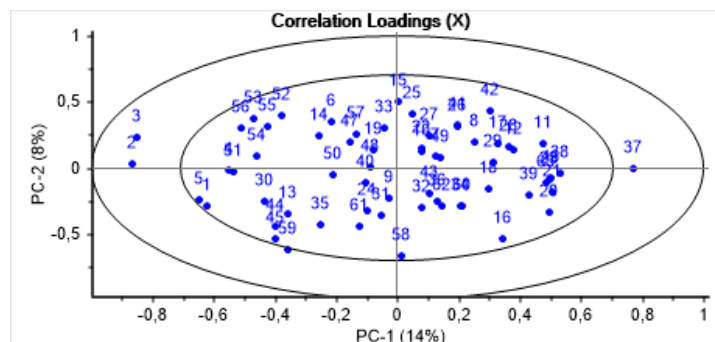


Figure 58 : Cercle des corrélations de l'ACP en Figure 57

Pour approfondir nos connaissances sur le sujet, une PLS-DA (*partial least squares discriminant analysis*) a été réalisée sur le lot d'échantillons en suivant le protocole décrit dans la **Partie Expérimentale**. Les valeurs 0 et 1 ont été attribuées respectivement à la moitié des cultivars commerciaux et à la moitié des houblons de Corse afin de mettre en exergue la présence ou l'absence d'une forte différenciation. Effectivement, l'autre moitié du panel

d'échantillons (cultivars commerciaux+houblons de Corse) suivait la prévision de la droite de régression avec un coefficient de détermination  $R^2 = 0,93$ , comme le montre la Figure 59.

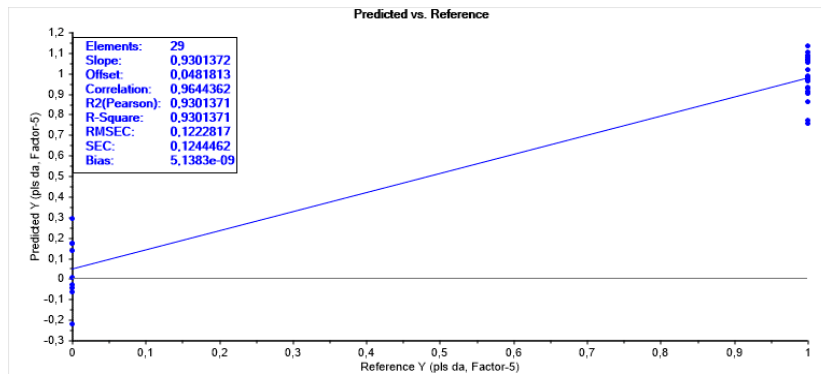


Figure 59 : Droite de régression linéaire des huiles essentielles

Une étude du graphe de régression en Figure 60 confirme le très fort impact du myrcène [composé 3] sur la différenciation entre les houblons de Corse (faibles teneurs) et les cultivars étudiés (hautes teneurs). La Figure 60 montre également une haute teneur en  $\beta$ -sélinène [composé 20] et en zingibérène [composé 21] dans les échantillons corses, contrairement aux cultivars commerciaux. En effet, les teneurs moyennes en zingibérène pour les cultivars commerciaux sont de 0,7 % (Tableau 9) contre 9,7 % pour les houblons de Corse (Tableau 10). Cette particularité est intéressante d'un point de vue qualitatif, puisque cette molécule présente dans le curcuma, le poivre et le gingembre apporte une saveur épicée très recherchée dans le monde brassicole.

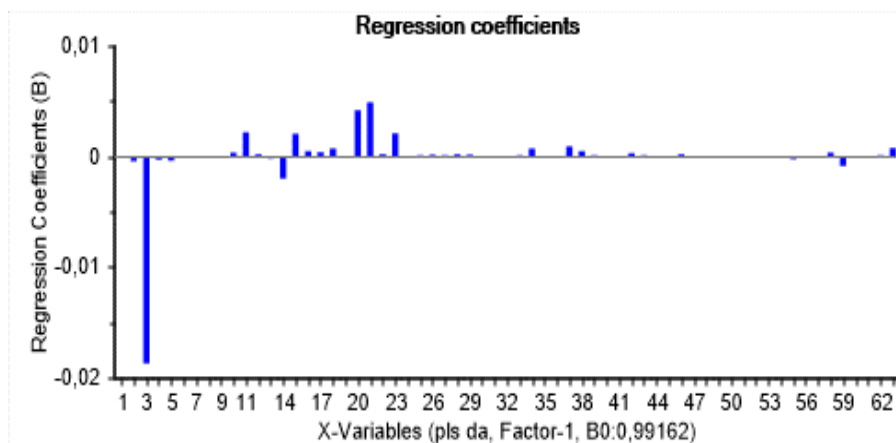


Figure 60 : PLS-DA des huiles essentielles



Afin de mettre en exergue les profils aromatiques des houblons spontanés de Corse, une analyse statistique des teneurs en composés volatils à fort impact organoleptique a été réalisée. Ces composés ont été sélectionnés en fonction de leur appartenance à la liste des HACP (*Hops Aroma Component Profile*)<sup>51</sup> et de leur abondance dans les houblons de Corse. Les teneurs mesurées ont été moyennées pour chaque station sur l'ensemble des années de récolte. L'ACP et le cercle de corrélation résultant de cette analyse sont illustrés dans la Figure 61.

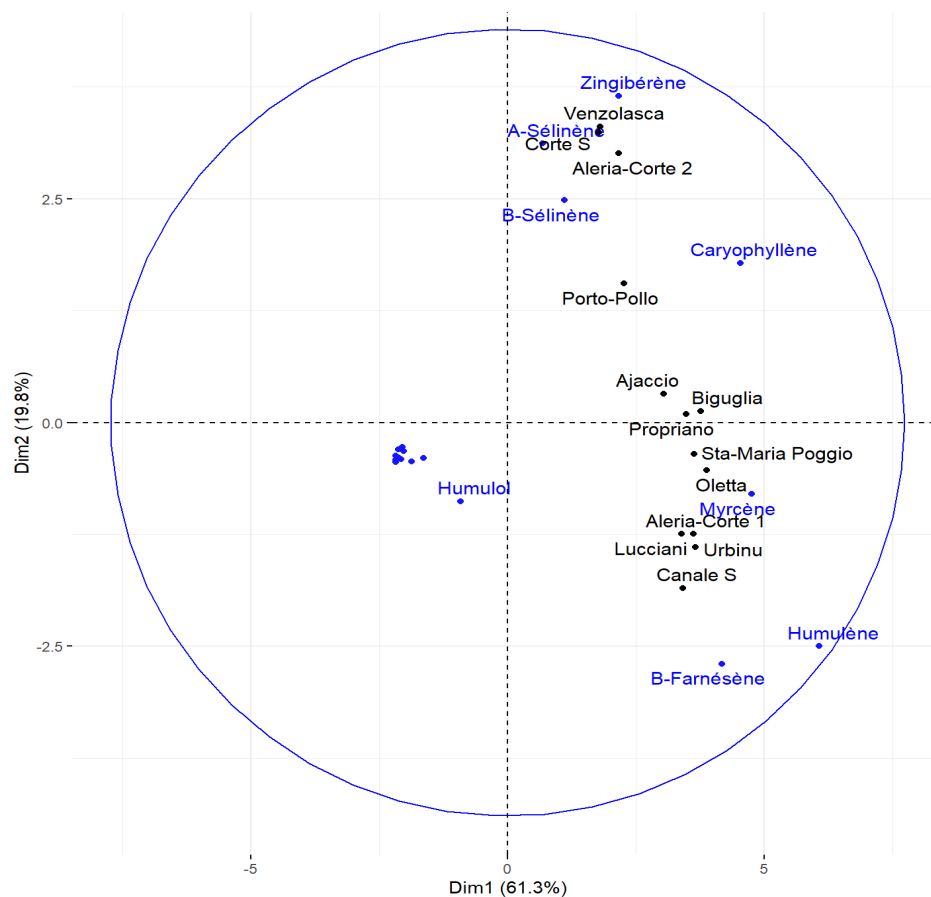


Figure 61 : ACP des houblons spontanés en fonction des composés à fort impact organoleptique

Comme écrit précédemment, le potentiel aromatisant des houblons spontanés de Corse a été estimé en fonction de leur corrélation avec les composés à fort impact organoleptique. Cette estimation est présentée dans le Tableau 11. Cette étude devait être complétée par une analyse sensorielle de chaque accession, mais les obligations sanitaires liées à la crise de la COVID-19 ne l'ont pas permis.

Tableau 11 : Potentiel aromatisant des houblons corses spontanés

Stations	Composés fortement corrélés	Notes aromatiques estimées
Corte	Zingibérène, $\alpha$ -Sélinène	Épicée (gingembre)/boisée
Canale	$\alpha$ -Humulène, $\beta$ -Farnésène	Boisée/agrume
Santa-Maria Poggio	Myrcène	Verte
Oletta	Myrcène	Verte
Ajaccio	Caryophyllène, Myrcène	Épicée (clou de girofle)/verte
Aleria-Corte 1	Myrcène	Verte
Aleria-Corte 2	Zingibérène, $\alpha$ -Sélinène, $\beta$ -Sélinène	Épicée (gingembre)/boisée/verte
Porto-Pollo	Caryophyllène, $\beta$ -Sélinène	Épicée (clou de girofle)/verte
Propriano	Caryophyllène, Myrcène	Épicée (clou de girofle)/verte
Biguglia	Caryophyllène, Myrcène	Épicée (clou de girofle)/verte
Urbinu	$\alpha$ -Humulène, $\beta$ -Farnésène	Boisée/agrume
Lucciana	$\alpha$ -Humulène, $\beta$ -Farnésène	Boisée/agrume
Venzolasca	Zingibérène, $\alpha$ -Sélinène	Épicée (gingembre)/boisée

### C. Impact de la mise en culture dans l’houblonnière expérimentale des houblons spontanés et des cultivars transplantés

La clé de nomenclature des échantillons est donnée dans le **Chapitre 2**. Les huiles essentielles des cônes ont été préparées dans les mêmes conditions que précédemment, selon le protocole décrit dans la **Partie Expérimentale**. Une étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles a été réalisée sur les échantillons mis en culture dans l’houblonnière expérimentale Ribella ainsi que sur leurs équivalents spontanés lorsqu’il s’agissait de houblons de Corse. Cette étude concerne la mise en culture d’échantillons provenant de cinq stations dont deux corses : Corte (C1-C10) et Canale (C11-C16) et trois commerciales : Cascade (V4-V6), Smaragd (V7-V9) et Tettnanger (V10-V12). Comme indiqué dans le Tableau 12, l’analyse par CPG-DIF et CPG-SM a conduit à l’identification de 63 composés volatils, représentant un taux d’identification compris entre 74,6 % et 99,3 %.

Tableau 12 : Composition chimique des fractions volatils des houblons mis en culture

No	Composés identifiés	Ir litt <sup>a</sup>	Ir a <sup>b</sup>	Ir p <sup>c</sup>	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12		
<b>Hydrocarbonés</b>																															
1	$\alpha$ -Pinène	917	931	1022	0,1	0,4		0,1					0,1		0,4	0,1	0,1	0,1					0,5	0,3	0,2		0,5	0,5		0,1	0,1
2	$\beta$ -Pinène	964	970	1110	0,3	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1		0,5	0,3	0,4	0,4		0,1	2,0	1,2	0,9	1,5	1,7	1,2	1,3	1,0	0,7		
3	Myrcène	981	976	1159	18,6	5,2	18,8	17,1	0,2	8,2	6,7	1,7	11,9	0,7	21,8	18,0	19,0	21,6	1,0		50,3	45,6	58,1	46,1	45,8	47,3	40,6	39,9	42,5		
4	p-Cymène	1010	1011	1268	0,1	0,2	0,2				0,1		0,1		0,1	0,3	0,1	0,1			0,3	0,2	0,3	1,1	1,1	1,1	0,7	0,8	0,7		
5	Limonène	1029	1020	1199	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1		0,1	0,1	0,1		0,3	0,1	0,2	0,4			0,9	1,1	0,9	0,1	0,5	0,3	0,6	0,6	0,6		
6	(Z) $\beta$ -Ocimène	1039	1024	1230	0,2	0,2		0,7			0,8	0,1	0,1		0,4	0,5	0,6	0,1	0,1		0,2	0,1	0,1	0,6	0,7	0,6	0,2	0,1	0,2		
7	(E) $\beta$ -Ocimène	1050	1034	1247			0,4			0,4	0,2		1,0	0,2							0,1	0,1	0,3				0,1		0,1		
8	$\alpha$ -Ylangène	1373	1375	1476	0,5	0,8	0,1	0,2	0,2	0,2		0,1	0,1	0,1	2,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7	0,8	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1	0,2	0,5	0,8	0,6	
9	$\alpha$ -Copaène	1381	1379	1488	0,1		0,1	0,1	0,1			0,1	0,1			0,3	0,3	0,7	0,1	0,1											
10	Isocaryophyllène	1402	1407	1571	7,2	0,9			0,1		0,5	0,1	0,1	0,2	0,1			0,1	0,1	5,3			0,1			0,4	0,2				
11	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1414	1424	1591	0,2	0,2	6,3	13,2	5,8	14,3	8,8	10,8	9,0	11,8	2,4	8,1	10,0	4,1	11,7	0,3	4,8	7,7	6,4	6,1	7,2	6,5	5,7	6,1	5,5		
12	$\beta$ -Copaène	1432	1431	1581	0,7	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5	0,2		0,1	0,2	0,2	0,1	0,4	0,2		0,1		
13	(E)- $\alpha$ -Bergamotène	1432	1432	1580	0,2	0,2	1,0	0,2			0,2	0,2	0,1		0,3	0,2	0,1	0,6	0,2	0,1	0,4	0,3		0,3	0,4		0,8	0,9	0,7		
14	(E)- $\beta$ -Farnesène	1445	1448	1661	5,6	3,1	10,3	3,4	0,5	2,6	0,3	2,2	3,6	2,5	1,8	4,7	2,5	3,2	13,8	18,4	6,8	8,2	3,9	4,1	3,9	4,0	20,2	21,2	19,3		
15	$\alpha$ -Humulène	1455	1456	1665	12,4	6,1	19,4	2,7	1,5	0,5	5,4	2,4	2,0	0,9	2,2	1,1		17,7	26,6	0,1	9,2	9,8	13,7	16,2	15,9	18,2	8,2	7,6	10,2		
16	4,5-Di- <i>epi</i> -aristolochène	1469	1467	1665	0,1	0,1	0,1	0,4	4,3	2,4	1,2	0,5	4,3	3,7	0,6	0,8	0,5	4,7	0,1	0,2	0,1	0,1	0,6	0,1	0,2	0,4					
17	$\gamma$ -Muuroloène	1477	1471	1681			3,7	3,2		4,2									1,8	1,5	0,2	0,8	0,1	0,2	0,5	0,3	0,9	1,2	0,7		
18	$\gamma$ -Himachalène	1479	1479	1693	0,3	0,1	0,3		5,0		1,4	4,5			3,6	3,6	3,6	1,3	0,2	0,1		0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
19	Germacrène D	1480	1480	1704																		0,5			0,1		0,4	0,5	0,3		
20	$\beta$ -Sélinène	1485	1483	1712	5,9	7,4	1,3	9,4	24,2	12,2	26,8	15,7	26,6	23,4	13,9	20,2	10,0	0,5	1,6	1,5	1,2	1,5	1,2	5,1	4,9	5,1	0,6	0,7	0,5		
21	Zingiberène	1493	1489	1717	7,4	2,2	13,9	8,7	20,6	13,0	25,9	15,6	25,7		10,6	21,7	11,6	0,3	1,6	2,9			1,1	0,4		1,1			0,9		
22	Valencène	1495	1497	1719			1,0	5,6							0,3	0,1		0,7	2,8	0,3	1,1	2,1	1,2	0,5	0,7	0,5	0,1		0,1		
23	$\alpha$ -Sélinène	1505	1494		7,0	1,2	1,4	11,6	0,6	3,5	0,2	20,9	0,5	23,6	0,4	0,4	20,1	0,9	2,3	3,0	0,4	0,1	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,3		
24	(E,E) $\alpha$ -Farnesène	1506	1498	1744	0,1	0,2	0,7		0,2	0,1	0,1				0,2			0,4	0,1	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1						
25	$\gamma$ -Cadinène	1513	1507	1752	0,9	0,1	0,1	0,4	0,8	0,1	0,1	0,5	0,4	0,4	0,3	0,5	0,4	0,4	1,1	1,1	0,7	0,6	0,5	1,3	1,5	1,3	0,1	0,2	0,1		
26	Calamenène	1522			0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,6					0,2			0,1	2,3	1,3	0,1	0,1	0,1	0,8	0,4	0,4	0,8	0,7	0,7		
27	$\delta$ -Cadinène	1524	1516	1752	0,5	0,1	0,2	1,1	0,1		0,1		1,3	1,0	0,1	0,1	1,1	0,2	0,2	0,1		1,2	0,9	0,1	0,1	0,9	0,1		0,1		
28	$\gamma$ -Bisabolène	1529				0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1			1,5	2,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1		
29	$\alpha$ -Cadinène	1538	1535	1743	0,1	0,9	0,2	0,1	0,3		0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	1,0	0,2	0,3	0,4	0,2				0,2	0,4	0,2		
<b>Alcools</b>																															
30	Linalol	1087	1081	1544	0,4		0,1	0,1		0,5	0,6	0,2	0,4	1,2	0,6	1,2	0,1	0,7	0,1	0,1	1,0	0,2	0,2	1,5	1,0	0,5	0,4	0,4	0,1		
31	$\alpha$ -Terpinéol	1179	1179	1700	0,1	0,4	0,1		0,1		0,1	0,1	0,1	0,1		0,3		1,0	0,1	0,1	0,1	0,1					0,1				
32	Caryolan-8-ol	1562	1559	2044	0,3	0,6	0,1	0,1		0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,6	0,5	0,1	0,7	0,1	0,6	0,3	0,1	0,2	0,1		0,1	0,1	0,2	0,1		
33	Viridiflorol	1593	1591	2089	2,7	0,2	0,6	0,2	0,2										0,2	1,4		0,2		1,0	1,2	1,0	1,3	0,9	0,9		
34	Humulol	1601	1588	2165	0,3	19,0	0,1	1,0	1,7	0,3	0,8	1,2	0,1	0,1	0,7	0,9	1,0	8,4	1,8	11,3		0,1	0,2			0,1					
35	Zingibérénol 1	1614	1599	2109		0,6	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,7	0,1	0,4	0,1	0,1	0,5	0,2		0,9	0,2		1,2		



Au niveau des houblons corses, des différences quantitatives peuvent être relevées pour une même localité, entre l'échantillon prélevé à l'état spontané et celui mis en culture (Figure 62). En effet, les HE des plants de Corte mis en culture (C1-C6, station 1) sont pour certains très différentes de celles de leurs homologues spontanés (C7-C10, station 2). Il en va de même pour les plants de Canale mis en culture (C11-C13, station 3) et ceux de Canale spontanés (C14-C16, station 4). D'après le cercle des corrélations en Figure 63, cette différenciation est surtout exprimée par les teneurs en  $\beta$ -sélinène [composé 20],  $\beta$ -pinène [composé 2] et limonène [composé 5]. Cette observation laisse présager un fort impact de la mise en culture sur la composition chimique des HE des houblons de Corse.

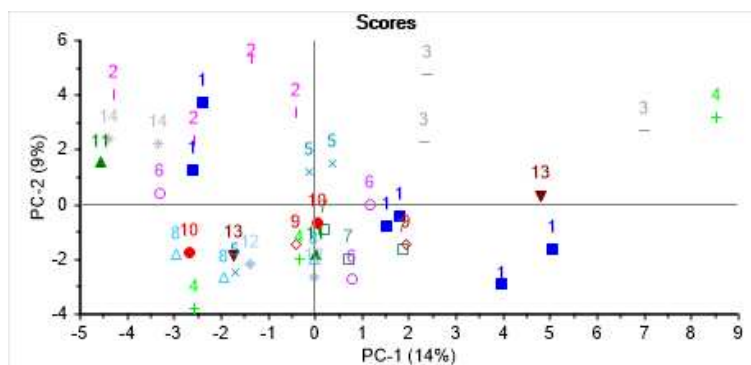


Figure 62 : ACP de la fraction en volatils des houblons de Corse

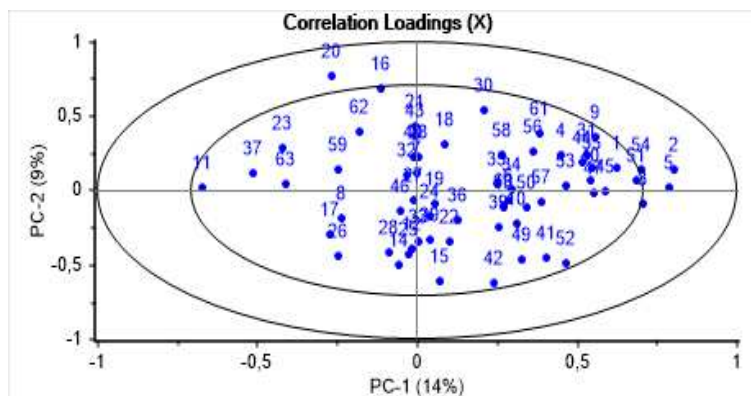


Figure 63 : Cercle des corrélations de l'ACP en Figure 62

En effet, le dendrogramme en Figure 64 met en lumière deux clusters parmi les huiles essentielles des houblons de Canale (houblons spontanés en rouge, houblons cultivés en bleu). Le premier cluster n'est constitué que des échantillons correspondant aux houblons spontanés (5 : Canale spontané 2020 ; 6 : Canale spontané 2021). Il se différencie à 14 % du second

cluster. Ce dernier regroupe l'intégralité des huiles de houblons cultivés (1 : Canale cultivé 2016 ; 2 : Canale cultivé 2017 ; 3 : Canale cultivé 2019) ainsi que l'échantillon 4 : Canale spontané 2016, correspondant au pied sauvage mis en culture dans l'houblonnière en 2016. Une nouvelle différenciation des huiles essentielles émerge dès l'année suivant la mise en culture (11 % de dissimilarité entre les échantillons 1 et 2).

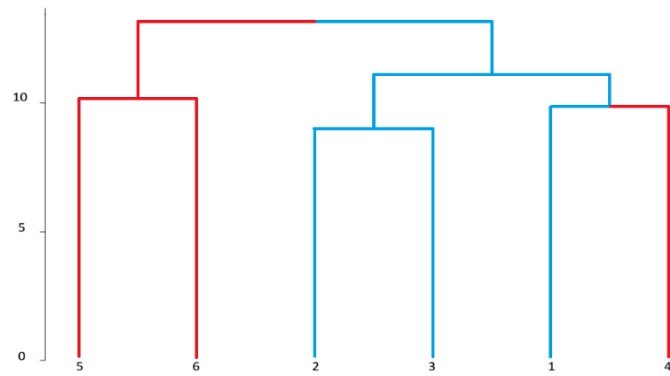


Figure 64 : Dendrogramme des HE des houblons de Canale

Des résultats similaires sont observés dans le dendrogramme en Figure 65 concernant la station de Corte avec l'émergence de deux clusters présentant un taux de dissimilarité égal à 12 %. Le premier regroupe tous les houblons spontanés en rouge (5 : Corte S 2017 ; 6 : Corte S 2019 ; 7 : Corte S 2020 ; 8 : Corte S 2021). Le second cluster est constitué de trois houblons cultivés (1 : Corte C 2015 ; 3 : Corte C 2017 ; 4 : Corte C 2019). Notons que l'échantillon 2 : Corte C 2016 est isolé avec 14 % de dissimilarité.

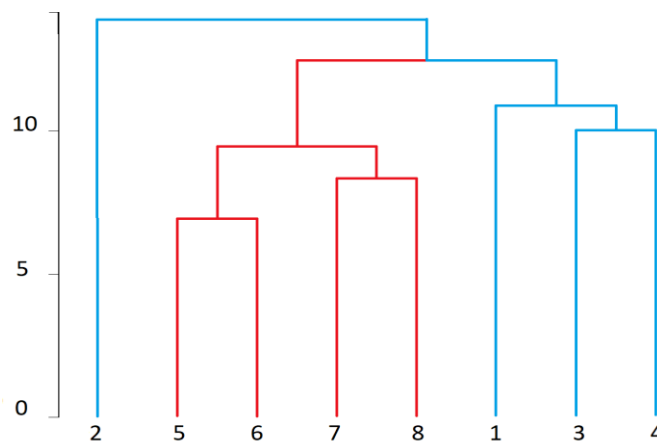


Figure 65 : Dendrogramme des HE des houblons de Corte

Pour finir, une comparaison des huiles essentielles des houblons commerciaux transplantés dans l'houblonnière expérimentale Ribella a été réalisée. Le dendrogramme en Figure 66

démontre une forte différenciation en fonction du cultivar (Cascade en bleu, Smaragd en vert, Tettninger en orange). Les échantillons 1, 4 et 7 correspondent aux houblons cultivés en Allemagne sur leur sol d'origine en année 0. Les échantillons 2, 5 et 8 correspondent à leurs homologues transplantés sur le sol corse en année 0. Les échantillons 3, 6 et 9 représentent ces mêmes houblons transplantés en année +1. On note qu'une différenciation des huiles essentielles apparaît dès les premiers mois après la transplantation (env. 8 % pour Cascade et Smaragd, env. 12,5 % pour Tettninger). Le fort impact du terroir corse sur la culture de houblons allemands est confirmé lors de l'année +1 avec un taux de dissimilarité allant de 7 % à 9,5 % pour leurs huiles essentielles.

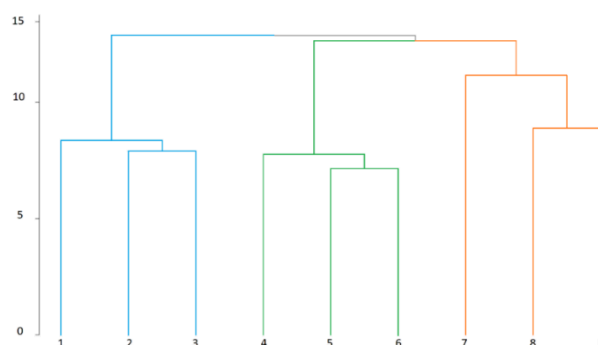


Figure 66 : Dendrogramme des HE des cultivars commerciaux transplantés en Corse

En outre, après avoir validé les méthodes de préparation et d'analyse sur des cultivars commerciaux par comparaison avec les données de la littérature, les analyses par CPG-SM/CPG-DIF des huiles essentielles des cônes et les études statistiques associées ont permis de mettre en lumière une large variabilité chimique pour les houblons de Corse spontanés. De plus, il semble que les fortes dissemblances entre les huiles essentielles des houblons insulaires et celles des cultivars commerciaux s'expriment par leurs plus faibles teneurs en myrcène et leurs plus fortes teneurs en  $\beta$ -sélinène et en zingibérène ; ce dernier composé, très concentré dans les houblons corses spontanés, étant particulièrement recherché dans le monde brassicole pour son arôme épicé. Enfin, le suivi de la composition chimique des huiles essentielles des houblons corses mis en culture et des cultivars allemands transplantés sur le territoire a permis de mettre en lumière un fort impact du terroir et des méthodes de culture sur le potentiel aromatique du Houblon.

## II. Composés volatils des tiges et feuilles

Dans un esprit de production de connaissances et d'éventuelle valorisation des ressources secondaires, une étude des tiges et feuilles de houblon a été réalisée sur un cultivar commercial (Tettnanger V11) mis en culture sur le littoral corse et un houblon de Corse spontané (Oletta C21). Ces parties du végétal, jusqu'à présent inutilisées, sont communément considérées comme des déchets dans le monde brassicole. Les feuilles et les tiges ont été hydrodistillées ensemble en suivant le protocole développé dans la *Partie Expérimentale*. Bien que très peu d'études montrent la présence d'huile essentielle dans les tiges et feuilles de houblon<sup>113,114</sup>, notre étude a révélé de faibles rendements en huile essentielle (<0,1 %) et un hydrolat chargé en composés volatils d'intérêt (Tableau 13). Eu égard au trop faible rendement en huile essentielle, une valorisation en l'état n'est pas envisageable. Cependant, le mélange huile essentielle + hydrolat en tant qu'ingrédient propre pourrait être exploité, et a donc fait l'objet de cette analyse. Les composés apolaires du mélange huile essentielle-hydrolat ont été extraits au diéthoxyde, puis analysés. L'analyse par CPG-DIF et CPG-SM a permis l'identification de 78 composés.

Tableau 13 : Composition chimique en volatils des tiges et feuilles de houblon

No	Composés identifiés	Ir litt a <sup>a</sup>	Ir litt p <sup>b</sup>	Ir exp a <sup>c</sup>	V11	C21
<b>Hydrocarbonés</b>						
1	$\alpha$ -Cubébène	1350	1452	1347		0,1
2	<b><math>\alpha</math>-Ylangène</b>	1375	1476	1369		0,1
3	<b><math>\alpha</math>-Copaène</b>	1379	1488	1374	4,8	0,4
4	$\beta$ -Bourbonène	1385	1515	1382		2,3
5	$\beta$ -Elémène	1388	1589	1386		0,7
6	<b>(E)-Caryophyllène</b>	1424	1591	1414	3,8	8,8
7	<b><math>\beta</math>-Copaène</b>	1431	1581	1425		0,9
8	<b>(E)-<math>\alpha</math>-Bergamotène</b>	1432	1580	1429	1,0	0,1
9	<b>(E)-<math>\beta</math>-Farnésène</b>	1456	1646	1444	1,5	0,3
10	<b><math>\alpha</math>-Humulène</b>	1456	1665	1447	11,6	3,7
11	Alloaromadendrène	1462	1638	1460		0,1
12	<b><math>\gamma</math>-Muuroène</b>	1471	1681	1470	3,3	1,7
13	<b>Germacrène D</b>	1480	1704	1475		1,2
14	<b><math>\beta</math>-Sélinène</b>	1483	1712	1478	9,2	1,4
15	<b>Zingiberène</b>	1489	1717	1483	6,4	0,4
16	<b><math>\alpha</math>-Sélinène</b>	1494		1488	9,0	0,4



17	$\alpha$ -Muuroolène	1496	1719	1491	0,8	2,2
18	<b><math>\gamma</math>-Cadinène</b>	1507	1752	1503	1,8	2,0
19	Aromadendra-1(10),4(15)-diène	1506		1506	0,6	
20	<b><math>\delta</math>-Cadinène</b>	1516	1752	1511	1,7	1,8
21	Eremophila-1(10),7(11)-diène	1524	1735	1522	1,4	0,1
22	$\alpha$ -Calacorène	1531	1895	1528		0,1
23	<b><math>\alpha</math>-Cadinène</b>	1535	1743	1530		0,2
24	Sélina-3,7(11)-diène	1542		1534	1,4	
<b>Alcools</b>						
25	(Z)-Pent-2-énol	750	1308	746	1,0	2,2
26	Oct-1-èn-3-ol	959	1446	965		0,1
27	Octan-3-ol	982	1361	985		0,1
28	Alcool benzylique	1011	1853	1012		0,6
29	Guaiacol	1065	1796	1062		0,2
30	$\beta$ -phényléthanol	1086	1863	1085		0,5
31	Terpinèn-4-ol	1161	1600	1162		0,1
32	<b><math>\alpha</math>-Terpinéol</b>	1179	1700	1173	1,2	0,3
33	4-Ethylguaiacol	1257	2001	1253		0,6
34	2-méthoxy-4-vinylphénol	1290	2163	1285	1,1	0,4
35	$\beta$ -Ionol	1409	1915	1402		0,1
36	4-epi-Cubébol	1483	1712	1481		1,4
37	6-epi-Shyobunol	1505	1881	1510		1,0
38	(Z)-Hydrate de sesquisabinène	1530	1980	1533		0,3
39	<b>Caryolan-8-ol</b>	1559	2044	1559	1,6	0,1
40	<b>Humulol</b>	1588	2165	1582		0,4
41	<b>Zingibérénol 1</b>	1599	2109	1599		0,1
42	<b>Zingibérénol 2</b>	1613	2190	1614		1,0
43	Caryophylla-4(14),8(15)-dièn-5- $\alpha$ -ol	1626	2285	1627	3,2	6,4
44	$\tau$ -Cadinol	1632	2169	1640	1,0	3,2
45	<b><math>\alpha</math>-Cadinol</b>	1642	2241	1635		0,6
46	$\beta$ -Bisabolol	1653	2140	1658		4,1
47	$\beta$ -Sesquiphellandrénol	1674	2362	1669	0,7	0,4
48	Eudesma-4(15),7-dièn-1- $\beta$ -ol	1672	2347	1671		0,6
49	<b><math>\alpha</math>-Bisabolol</b>	1672	2217	1674		1,7
50	(2Z,6E)-Farnésol	1683	2294	1684		0,3
51	Phytol	2102		2098		0,1
<b>Cétones</b>						
52	Octan-3-one	963	1253	968		0,1
53	<b>Undécan-2-one</b>	1273	1562	1274		0,1
54	Géranylacétone	1428	1851	1428/		0,5
55	$\beta$ -Ionone	1466	1936	1463		0,5
56	Phytone	1842		1842	1,1	0,1
<b>Aldéhydes</b>						
57	Benzaldéhyde	929	1525	928	1,4	3,1
58	m-Tolualdéhyde	1053	1585	1054		3,4

59	<b>Nonanal</b>	1083	1394	1082		0,4
60	<b>Décanal</b>	1185	1498	1184		0,1
61	$\beta$ -Cyclocitral	1200	1613	1196		0,3
<b>Esters</b>						
62	Salicylate de méthyle	1173	1731	1169		0,1
63	Salicylate d'éthyle	1251	1798	1246		0,1
64	Salicylate de benzyle	1838	2747	1828		0,5
65	(E,E)-Acétate de farnésyle	1895	2366	1891		0,3
66	Palmitate de méthyle	1908		1907		0,2
67	Palmitate d'éthyle	1968		1977		0,4
68	Linoléate de méthyle	2079		2073		0,4
69	Linoléate d'éthyle	2166		2143		1,3
<b>Autres</b>						
70	(E) Oxyde de linalol	1057	1435	1059		0,3
71	(Z) Oxyde de linalol	1073	1440	1072		0,2
72	Indole	1269	2357	1258		0,1
<b>73</b>	<b>Oxyde de caryophyllène</b>	<b>1576</b>	<b>1980</b>	<b>1566</b>	<b>3,3</b>	<b>11,6</b>
74	<b>Époxyde d'humulène I</b>	1593	2040	1590	6,2	3,1
75	<b>Époxyde d'humulène II</b>	1602	2044	1608	1,5	0,2
76	Acide tétradécanoïque	1748		1746		0,4
77	<b>Acide hexadécanoïque</b>	1942		1936	5,3	2,4
78	Acide linoléique	2122		2138	5,4	0,5
<b>% d'identification</b>					<b>87,2</b>	<b>82,5</b>

*a* : indices de rétention sur colonne apolaire reportés dans la littérature<sup>112</sup> ; *b* : indices de rétention expérimentaux sur colonne polaire ; *c* : indices de rétention expérimentaux sur colonne apolaire.

Les composés majoritaires identifiés pour V11 et C21 sont respectivement **l' $\alpha$ -humulène** (11,6 %) et **l'oxyde de caryophyllène** (11,6 %). Il est à noter que pour un pourcentage d'identification proche (82,5 % pour C21 et 87,2 % pour V11), l'échantillon spontané présente une diversité chimique en volatils beaucoup plus importante que le cultivar transplanté (78 composés identifiés pour C21 contre 29 pour V11).

Parmi les composés identifiés, vingt-neuf (**en gras**) sont également présents dans l'huile essentielle des cônes des houblons étudiés (Tableau 9, Tableau 10 et Tableau 12) ; trente-quatre composés des huiles essentielles des cônes n'ont donc pas été détectés dans les tiges et feuilles. Aucun des composés identifiés dans les tiges et feuilles et absents des huiles des cônes ne peut être considéré comme indésirable ou non comestible. Cette expérimentation pourrait être appliquée à la totalité des échantillons afin de mettre en lumière le profil aromatique des tiges et feuilles des houblons de Corse de chaque station d'échantillonnage.

Contrairement à ce que l'on peut lire fréquemment dans la littérature, les tiges et les feuilles de houblon ne sont donc pas dénuées d'intérêt. Bien que cela soit en faible quantité, ces deux organes contiennent effectivement une huile essentielle. Dans le Houblon de Corse, le mélange huile essentielle + hydrolat est constitué de molécules d'intérêt en fortes teneurs tels que le (E)- $\beta$ -Caryophyllène (8,8 %) ou encore l'Oxyde de caryophyllène (11,6 %). Cette composition chimique conduit à penser qu'une valorisation de ces « déchets de brasserie » est possible dans le cadre d'un renforcement de l'aromaticité des bières, ou dans le cadre d'une nouvelle filière agroalimentaire qu'il reste à définir. La piste du lancement d'une filière « Houblon de Corse » est développée dans le « *Nouveau Chapitre de Thèse* ».

### III. Composés phénoliques et amérisants des cônes

La détermination du pouvoir amérisant d'un houblon est un prérequis majeur à son utilisation brassicole. Afin d'appréhender le potentiel de brassage du Houblon de Corse dans son intégralité, il est donc indispensable de réaliser une quantification précise des molécules présentant un pouvoir amérisant, et dans une vision plus globale, des composés majoritaires à fort potentiel organoleptique. Dans cette optique, une étude des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides, du xanthohumol, de l'isoxanthohumol et des flavonoïdes prénylés contenus dans les cônes femelles des houblons de Corse a été réalisée. Au préalable, elle a nécessité le développement de nouvelles méthodologies d'analyse adaptées à ce végétal. Nous avons été amenés à constituer une base de données CL-SM/SM spécifique par enregistrement des spectres de dix-sept composés et de déterminer leurs paramètres d'extraction optimaux.

#### A. Enregistrement de standards dans la base de données CL-SM/SM

Pour l'analyse par CL-SM/SM des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides, un mélange standardisé est disponible dans le commerce : le standard *International Calibration Standard 3* (ICE-3) du laboratoire Labor Veritas. Il s'agit d'un mélange normé de trois  $\alpha$ -acides (cohumulone, humulone, adhumulone) et de trois  $\beta$ -acides (colupulone, lupulone, adlupulone). Le Tableau 14 reproduit la composition de ce standard telle qu'elle est donnée sur la fiche technique.

Tableau 14 : Composition du mélange ICE-3 (exprimée en g/100g de standard)

$\alpha$ -acides		$\beta$ -acides	
Cohumulone	Humulone + adhumulone	Colupulone	Lupulone + adlupulone
31,88	30,76	13,44	10,84
Total $\alpha$ -acides		Total $\beta$ -acides	
44,64		24,28	

En plus de celles des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides, les données de quatre autres constituants du houblon ont également été enregistrées (xanthohumol, isoxanthohumol, 6- et 8-prénylnaringénine). Pour chacun de ces constituants de référence, la stratégie choisie a été de rechercher deux transitions MRM pour chaque mode d'ionisation (positif et négatif) ainsi que les spectres de masse

correspondants. Le Tableau 15 indique les temps de rétention et les transitions MRM observées en modes négatif et positif des différents standards de référence.

Tableau 15 : Temps de rétention et transitions MRM des 10 standards enregistrés

Composés	Temps de rétention	Transitions MRM			
		Mode négatif		Mode positif	
$\alpha$ -acides		Transition 1	Transition 2	Transition 1	Transition 2
Cohumulone	27,1	347,176/278,000	347,176/234,900	-	-
Humulone	28,6	361,200/292,000	361,200/220,900	-	-
Adhumulone	28,7	361,210/292,000	361,210/220,900	-	-
$\beta$ -acides					
Colupulone	35,2	399,300/286,900	399,300/219,000	401,400/277,000	401,400/203,200
Lupulone	36,1	413,300/301,200	413,300/233,100	-	-
Adlupulone	37,1	413,300/301,200	413,300/233,100	-	-
Autres composés phénoliques					
8-prénylnaringénine	33,0	339,141/118,900	339,141/219,000	-	-
6-prénylnaringénine	23,7	339,168/119,000	339,168/218,900	-	-
Xanthohumol	31,4	353,104/119,000	353,104/233,000	355,100/73,200	355,100/179,100
Isoxanthohumol	28,2			355,077/178,900	355,077/299,000

Concernant le mélange de standard ICE-3, d'après sa fiche technique et certaines publications, la lupulone et l'adlupulone, très proches structurellement (mêmes transitions MRM et spectres de masse proches (Figure 67)), co-éluent en chromatographie liquide.

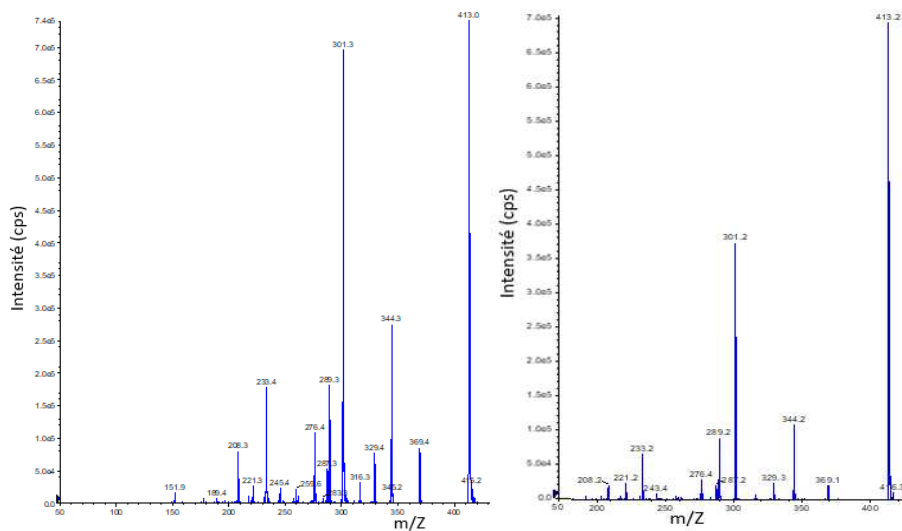


Figure 67 : Spectres de masse de la lupulone (à gauche) et de l'adlupulone (à droite)

Afin de séparer au mieux ces composés, les paramètres de la chromatographie liquide ont été optimisés en faisant varier, notamment, le gradient d'élution, le temps d'analyse et la concentration de l'extrait injecté. Les meilleures réponses en CL-SM/SM et les pics les mieux résolus ont été obtenus pour les paramètres analytiques suivants :

- Volume d'injection : 10 $\mu$ L
- Concentration de l'extrait injecté :  $\sim$ 500 $\mu$ g/mL
- Flux d'élution : 500 $\mu$ L/mn
- Solvants d'élution : H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN
- Gradient d'élution H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN : 90/10 à 0mn, -10/+10 toutes les 5mn
- Durée d'analyse : 55mn

Les conditions décrites supra permettent de séparer la lupulone et l'adlupulone efficacement par chromatographie liquide comme le montre le chromatogramme de la Figure 68. Ceci est un résultat très intéressant, notamment pour l'analyse quantitative des  $\beta$ -acides qui sera décrite plus avant. Cependant, malgré les nombreuses variations de conditions d'analyse, aucune optimisation n'a pu être obtenue pour la séparation efficace de la humulone et de l'adhumulone.

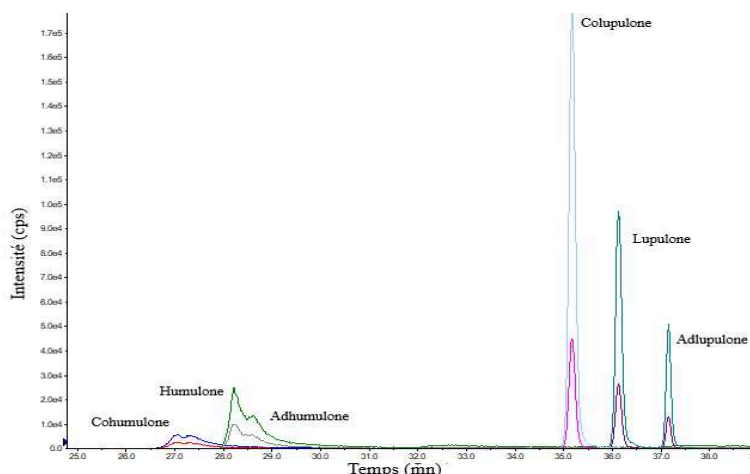


Figure 68 : Chromatogramme du standard ICE-3 obtenu par CL-SM/SM

Après avoir ajouté ces dix composés dans la banque de données du laboratoire, des courbes de calibration de tous les composés à quantifier ont dû être tracées afin de déterminer leur coefficient de réponse en spectrométrie de masse. À titre d'exemple, la Figure 69 représente la courbe de calibration obtenue pour l'adhumulone sur la base d'une de ses transitions MRM

(361,200/292,000). Les détails du protocole d'étalonnage sont donnés dans la **Partie Expérimentale**.

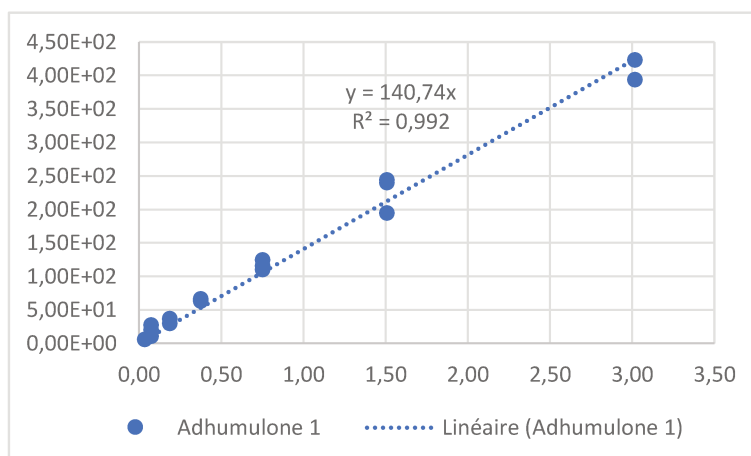


Figure 69 : Coubre de calibration en CL-SM/SM de l'adhumulone

Le détail des composés à quantifier et de leurs facteurs de réponse par CL-SM/SM pour les conditions analytiques choisies est donné dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Facteurs de réponse des composés à quantifier par CL-SM/SM

N°	Composés	Transitions MRM	Facteurs de réponse
1	Hypéroside	463,080/300,000	214299
		463,080/271,100	69935
2	Daticine	593,107/285,000	43,2
		593,107/284,300	85,658
3	Kaempférol-3-O-rutinoside	593,197/283,900	107,78
		593,197/285,000	67,36
4	Rutine	609,082/300,000	16,665
		609,082/301,000	14,886
5	Isoquercitrine	463,103/300,000	8,9155
		463,103/300,500	7,5642
6	Kaempférol-3-O-glucoside	447,054/285,200	16,935
7	Quercétagétine	317,041/110,900	1735,9
8	Myricétine	359,060/329,000	8063,7
		359,060/257,900	4351,8
9	Cohumulone	347,176/278,000	0,2228
		347,176/234,900	0,2284
10	8-prénylnaringénine	339,141/118,900	79,096
		339,141/219,000	157,94
11	Humulone	361,200/292,000	4,3974
		361,200/220,900	4,3869
12	Adhumulone	361,210/292,000	4,2527

		361,210/220,900	3,8417
13	6-prénylnaringénine	339,168/119,000	7,2079
		339,168/218,900	21,413
14	Xanthohumol	353,104/119,000	85,46
		353,104/233,000	54,186
15	Colupulone	399,300/286,900	0,1171
		399,300/219,000	0,1043
16	Lupulone	413,300/301,200	0,0626
		413,300/233,100	0,03
17	Adlupulone	413,300/301,200	18,928
		413,300/233,100	11,841
18	8-acétyl-6,7-diméthoxycoumarine	249,123/203,000	379578
		249,123/231,100	341505
19	7-méthoxy-4-méthylcoumarine	191,131/91,000	254883
		191,131/105,000	148390
20	Isoxanthohumol	355,077/178,900	80448
		355,077/299,000	1104,5
21	3,4-dihydrocoumarine	149,069/65,100	550,31
		149,069/120,900	275,96

## B. Mise en œuvre de la méthode d'extraction

Pour la préparation des extraits de cônes de houblon, un solvant (MeOH) et des mélanges hydroalcooliques (MeOH/Eau, EtOH/Eau, MeOH/Eau acidifiée) ont été testés, soit un total de quatre solvants ou mélanges de solvants. Les critères analytiques choisis pour valider le solvant optimal d'extraction sont les rendements d'extraction et les mesures des aires des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides obtenues par CL-SM/SM. Le choix du solvant a été réalisé à partir de la macération des cônes de la station C7 (Corte spontané). Le Tableau 17 montre les rendements d'extraction et les aires des pics obtenus pour cet échantillon en fonction du solvant d'extraction. Les tests ont été tripliqués et les résultats moyennés.

Tableau 17 : Choix du solvant d'extraction des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides

Solvants	Rendements d'extraction (%)	Aires du cumul des $\alpha$ -acides <sup>a,b</sup>	Aires du cumul des $\beta$ -acides <sup>a,b</sup>	Aires totales <sup>a,b</sup>
MeOH	0,48	$7,6 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^8$	$3,0 \cdot 10^8$
MeOH/H <sub>2</sub> O (50 : 50)	0,99	$4,1 \cdot 10^7$	$6,4 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^8$
EtOH/H <sub>2</sub> O (50 : 50)	0,10	$3,0 \cdot 10^7$	$8,6 \cdot 10^6$	$3,9 \cdot 10^7$
MeOH/H <sub>2</sub> O/HCOOH	0,62	$8,7 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^8$	$3,2 \cdot 10^8$

<sup>a</sup> Aires en cps.mn<sup>-1</sup> mesurées par CL-SM/SM ; <sup>b</sup> Volume d'injection : 10 $\mu$ L



Les macérations dans les mélanges binaires MeOH/Eau et EtOH/Eau permettent d'obtenir des rendements d'extraction (respectivement 0,99 % et 0,10 %) supérieurs à ceux obtenus pour les macérations dans le MeOH à 100 % et dans le mélange MeOH/Eau/HCOOH (respectivement 0,48 % et 0,62 %). En revanche, les aires des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides mesurées par CL-SM/SM sont plus élevées pour les macérations dans MeOH 100 % ( $3,0 \cdot 10^8$  cps.mn) et dans MeOH/Eau/HCOOH ( $3,0 \cdot 10^8$  cps.mn). Sur la base de ces résultats, le mélange MeOH/Eau (50 : 50) a été sélectionné en raison du meilleur compromis rendement d'extraction / aire totale. Par ailleurs, nous n'avons pas sélectionné le mélange MeOH/Eau/HCOOH à 0,02 % retrouvé dans la littérature pour l'extraction des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides, afin d'éviter toute dégradation par hydrolyse des composés phénoliques également recherchés.

La durée optimale de macération a été déterminée sur la base du rendement d'extraction. Pour le même échantillon végétal (station C7), des macérations des cônes dans MeOH/H<sub>2</sub>O (50 : 50) ont été réalisées durant 6h, 12h, 18h, 24h et 36h. De plus, pour chacune de ces durées, les macérats ont été soumis à une agitation orbitale. Une autre série a été réalisée sans agitation orbitale. Les tests ont été tripliqués ; les rendements d'extraction recensés dans le Tableau 18 représentent les moyennes de ces triplicats.

*Tableau 18 : Optimisation de la durée et méthode de macération*

<b>Durées de macération (h)</b>	<b>Rendements d'extraction (%) avec agitation orbitale</b>	<b>Rendements d'extraction (%) sans agitation orbitale</b>
6	0,08	0,00
12	0,21	0,05
18	0,65	0,26
24	0,99	0,47
36	0,99	0,51

Les rendements d'extraction sont meilleurs pour les macérations réalisées avec une agitation orbitale que pour celles réalisées sans agitation (respectivement 0,08-0,99 % et 0,00-0,51 %). De plus, pour celles réalisées avec agitation orbitale, on remarque un arrêt de l'augmentation du rendement d'extraction après vingt-quatre heures.

Pour toutes ces raisons, la méthode d'extraction optimisée des composés phénoliques et des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides qui sera conservée tout au long de ce travail est la macération au MeOH/H<sub>2</sub>O (50 : 50) sous agitation orbitale durant vingt-quatre heures.

### C. Recherche des $\alpha$ - et $\beta$ -acides non référencés et Enrichissement de la base de données

En sus des six  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides communément quantifiés dans le houblon, huit autres sont décrits dans la littérature, mais les standards correspondants ne sont pas disponibles dans le commerce. Afin de les identifier dans nos extraits, une nouvelle méthodologie a été développée. Dans un premier temps, les transitions MRM et les temps de rétention des huit composés supplémentaires recherchés ont été trouvés dans la littérature, puis ces données ont été mises en relation avec celles résultant de l'analyse en « full-scan » (méthode non ciblée) de l'échantillon de houblon C7 dont le chromatogramme est présenté en Figure 70.

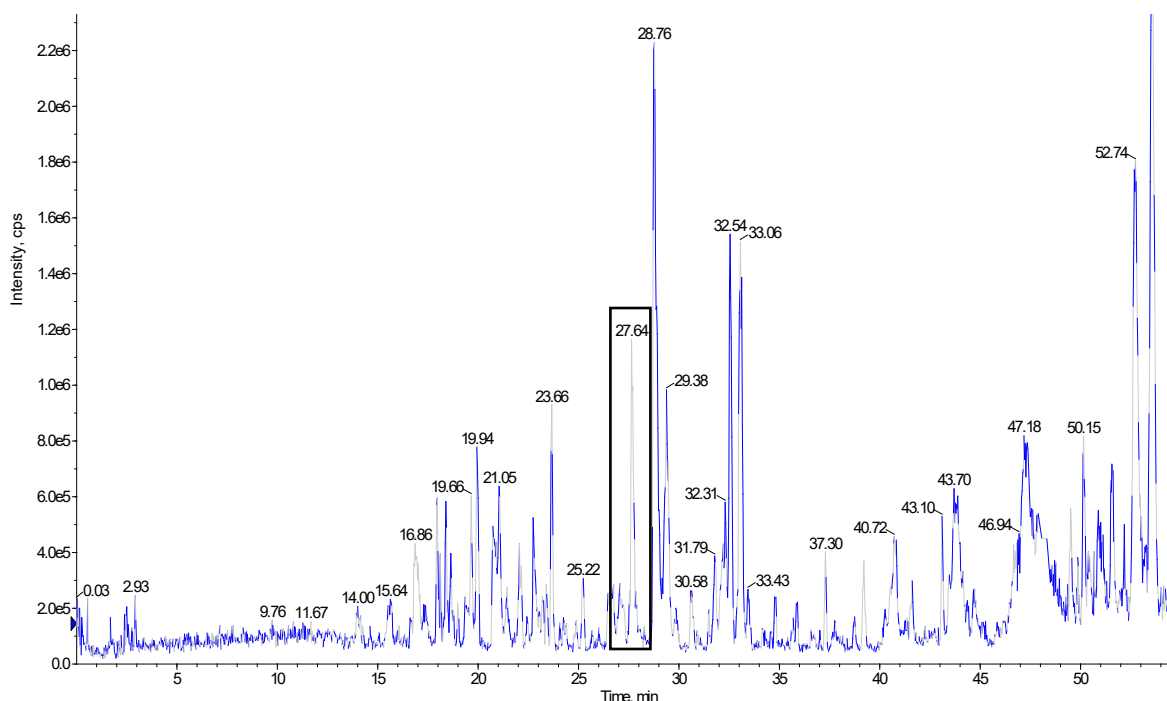


Figure 70 : Chromatogramme obtenu par CL-SM/SM en « full-scan » (ionisation négative)

Nous avons procédé à une étude de la fragmentation de tous les ions moléculaires détectés dans la zone 15-40mn du chromatogramme, zone dans laquelle étaient attendus les huit composés recherchés. Sur les huit composés recherchés dans l'extrait C7, seule l'adlupone n'a pas été décelée. Le pic obtenu par CL-SM/SM en « full-scan » pour l'un de ces sept composés,

la préhumulone, a été encadré dans la Figure 70. Les transitions MRM et le spectre de masse de ces sept composés ont ensuite été enregistrés dans la banque de données du laboratoire. Pour vérifier leur bonne résolution, une nouvelle analyse a été lancée par CL-SM/SM en mode MRM (méthode ciblée uniquement sur les transitions MRM de ces sept composés). Le chromatogramme obtenu pour l'échantillon C7 en ionisation négative est présenté dans la Figure 71.

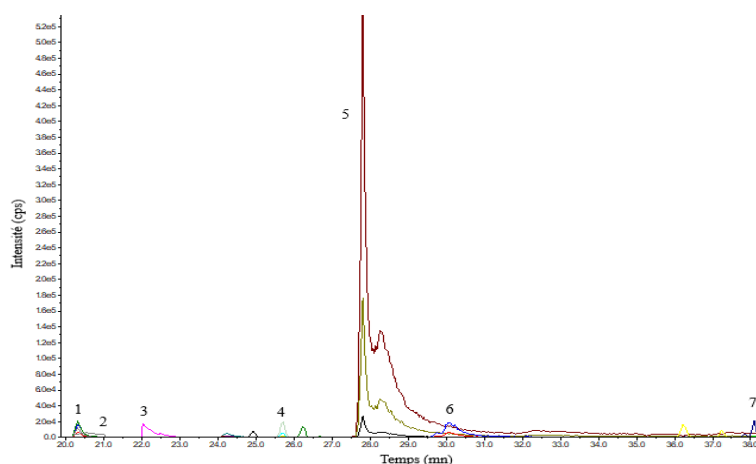


Figure 71 : Chromatogramme des  $\alpha/\beta$ -acides non-usuels par CL-SM/SM (méthode ciblée)

À titre informatif, les structures de la posthumulone, de la cohulupone et de la humulinone sont illustrées dans l'*État de l'Art*. Les temps de rétention et les transitions MRM de ces sept  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides supplémentaires sont présentés dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Transitions MRM et temps de rétention des  $\alpha/\beta$ -acides non usuels

N°	Composés	Temps de rétention	Transitions MRM	
			Transition 1	Transition 2
	<b><math>\alpha</math>-acides</b>			
22	Posthumulone	15,7	333,000/264,000	333,000/221,000
23	Humulinone	20,7	377,000/263,000	-
24	Préhumulone	26,2	375,000/306,000	375,000/263,000
25	Adpréhumulone	29,1	361,000/292,000	361,000/249,000
	<b><math>\beta</math>-acides</b>			
26	Cohulupone	20,5	317,000/220,000	317,000/205,000
27	Lupulone E	25,7	415,000/371,000	415,000/302,000
28	Prélupulone	38,1	427,000/358,000	427,000/315,000

Ces sept  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides non conventionnels ont été quantifiés dans nos extraits. Comme leurs standards n'étaient pas disponibles dans le commerce, nous avons procédé à une quantification en équivalent humulone lorsqu'il s'agissait d' $\alpha$ -acides ou en équivalent lupulone lorsqu'il s'agissait de  $\beta$ -acides. Les résultats afférents sont exposés dans la suite du mémoire.

#### D. Houblons de Corse spontanés

La méthode d'extraction mise au point précédemment a été appliquée à 28 échantillons de houblons de Corse poussant spontanément (C8-C10 ; C15-C16 ; C18-C40). Les extraits ainsi obtenus ont été analysés par CL-SM/SM avec les paramètres analytiques décrits supra.

L'analyse préliminaire par CL-SM/SM des extraits a permis de déceler la présence des vingt-et-un constituants détaillés dans le Tableau 16. En suivant le protocole décrit supra, sept autres composés ont été identifiés, élevant, ainsi, à vingt-huit le nombre total de composés identifiés (Tableau 16 et Tableau 19). Pour chaque composé identifié, une quantification vraie a été réalisée à l'aide de leur coefficient de réponse en spectrométrie de masse, la concentration en standard interne (éthylvanilline) et l'aire des pics correspondant au standard interne et au composé à quantifier, tel que décrit la *Partie Expérimentale*. Notons que le coefficient de réponse des sept  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides non usuels a été calculé en équivalent humulone pour les  $\alpha$ -acides et lupulone pour les  $\beta$ -acides, car leurs standards ne sont pas disponibles dans le commerce et que nous n'avons donc pas pu tracer leurs courbes d'étalonnage. Les facteurs de dilution ont été pris en compte afin de déterminer la masse de chaque composé ( $\mu\text{g}$ ) par gramme de cônes de houblon (Tableau 20).

Une analyse statistique a été réalisée sur cette quantification de composés phénoliques et d' $\alpha$ - et  $\beta$ -acides en suivant le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. L'ACP présentée en Figure 72 définit deux groupes parmi les houblons spontanés de Corse.

Tableau 20 : Caractérisation chimique des extraits de houblons corses spontanés par CL-SM/SM

Composé	C8	C9	C10	C15	C16	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C35	C36	C37	C38	C39	C40	
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
2	0,02	0,15	0,39	0,11	0,25	0,10	0,10	0,03	0,19	0,08	0,03	0,48	0,20	0,05	1,68	0,09	0,21	0,80	0,19	1,40	0,01	0,88	0,06	0,09	0,35	0,59	0,22	1,07	
3	0,02	0,05	0,47	0,05	0,12	0,08	0,10	0,04	0,08	0,05	0,07	0,58	0,15	0,01	1,37	0,03	0,10	0,47	0,15	1,01	0,00	0,56	0,03	0,07	0,19	0,38	0,12	1,17	
4	0,01	0,00	0,53	0,07	0,42	0,00	0,20	0,00	0,28	0,20	0,04	0,00	0,33	0,00	2,83	0,00	0,00	0,94	0,00	2,11	0,00	1,81	0,30	0,10	0,31	0,71	0,19	1,92	
5	0,04	0,00	0,75	0,26	0,73	0,00	0,31	0,00	0,79	0,28	0,00	0,00	0,48	0,00	4,10	0,00	0,00	1,64	0,00	2,27	0,12	3,51	0,00	0,26	0,42	0,53	0,41	2,80	
6	0,01	0,00	0,31	0,04	0,32	0,00	0,07	0,03	0,11	0,02	0,03	0,00	0,12	0,00	1,42	0,00	0,00	0,51	0,00	0,48	0,04	0,49	0,00	0,02	0,06	0,15	0,02	0,79	
7	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,01	0,00	0,00	0,04	0,02	0,01	0,14	0,00	0,10	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,19	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	
8	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03
9	99,46	0,00	2762,64	0,00	59,46	327,44	2915,50	57,04	65,70	2219,66	99,63	0,00	1576,25	70,18	1266,74	0,00	0,00	4979,22	0,00	5805,54	0,00	1237,91	5,27	16,93	0,00	874,47	0,00	438,92	
10	0,03	0,02	0,05	0,09	0,09	0,13	0,39	0,07	0,10	0,11	0,12	0,32	0,37	0,25	0,25	0,03	0,03	0,23	0,00	0,47	0,01	0,30	1,37	0,08	0,16	0,14	0,12	0,30	
11	178,51	0,50	911,21	0,00	72,49	262,14	720,30	32,42	111,49	623,97	19,43	3,18	4763,83	29,07	724,21	0,53	1,65	1560,05	0,57	1590,57	0,00	643,36	1,04	8,03	0,00	381,14	0,35	283,45	
12	220,14	0,37	1154,72	0,61	72,59	299,29	791,88	34,03	129,18	510,13	23,57	2,93	1445,07	38,76	865,69	0,41	1,41	1955,59	0,58	2484,81	0,00	1061,48	0,96	7,59	0,00	518,32	0,35	308,44	
13	0,49	0,15	0,16	0,93	0,24	0,81	2,25	1,00	1,29	0,51	1,47	2,59	1,75	2,31	0,99	1,12	0,89	1,43	0,00	2,21	0,13	1,10	16,13	0,23	1,38	0,43	1,99	1,02	
14	1,60	0,00	3,35	3,27	1,36	3,75	12,26	0,39	4,27	6,13	8,78	7,90	26,03	12,37	13,85	0,00	0,00	16,58	0,00	21,12	0,41	11,65	27,65	1,70	1,84	7,74	1,38	8,39	
15	2,48	0,00	4805,74	0,00	140,44	0,00	761,25	0,00	0,00	651,89	0,00	0,00	37,97	0,00	1283,57	0,00	0,00	349,81	0,00	67,87	0,00	174,94	0,00	1,08	0,00	650,67	0,00	2948,60	
16	0,00	0,00	1140,98	0,00	42,05	0,00	197,70	0,00	0,00	197,65	0,00	0,00	95,14	0,00	416,46	0,00	0,00	429,11	0,00	51,74	0,00	171,78	0,00	0,00	0,00	210,87	0,00	890,70	
17	23,96	0,00	374,86	0,00	15,08	1,71	136,96	0,00	7,19	124,01	0,66	0,00	1,60	0,13	202,42	0,00	0,00	29,69	0,00	13,86	0,00	53,30	0,00	0,42	0,00	109,26	0,00	460,53	
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,01	0,00	0,18	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,01	7,54	0,00	0,00	0,03	0,00	0,04	0,00	0,02	0,01	0,21	0,00	0,49	0,00	0,02	
21	0,46	0,62	3,64	0,42	220,21	1,20	4,18	0,88	0,92	3,70	2,32	0,91	4,74	1,35	799,51	0,56	0,86	3,56	0,69	3,87	0,46	3,33	0,28	35,20	0,23	65,56	0,39	3,98	
22	0,00	0,00	0,00	0,02	0,08	0,00	0,04	0,01	0,00	0,04	0,01	0,02	0,07	0,03	0,04	0,00	0,00	0,03	0,01	0,05	0,20	0,06	0,06	0,06	0,01	0,04	0,00	0,03	
23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,12	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,07	0,00	0,02	0,00	0,00	0,03	0,00	0,08	0,16	0,05	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,01	
25	0,00	0,00	0,43	0,00	0,08	0,00	0,28	0,00	0,00	0,37	0,00	0,00	0,06	0,00	0,24	0,00	0,00	0,26	0,00	0,33	0,31	0,23	0,00	0,01	0,00	0,19	0,00	0,22	
26	0,15	0,40	0,27	1,57	19,27	13,28	7,70	1,53	0,03	1,75	2,27	1,80	13,55	29,81	8,03	4,18	0,04	35,10	1,07	3,82	51,47	13,01	17,00	3,94	0,06	9,85	0,05	0,98	
27	0,01	0,01	0,31	0,01	0,08	0,01	0,10	0,01	0,01	0,12	0,00	0,00	0,10	0,06	0,33	0,01	0,01	0,15	0,00	0,33	11,97	0,15	0,01	0,05	0,00	0,17	0,01	0,54	
28	0,02	0,06	1,99	0,01	0,29	0,05	0,52	0,05	0,07	0,99	0,02	0,07	1,19	0,10	0,63	0,02	0,03	1,21	0,01	1,55	63,71	0,32	0,09	0,17	0,00	0,31	0,01	2,65	
α-Acides	498,11	0,87	4829,01	0,63	204,73	888,87	4428,03	123,5	306,37	3354,2	142,64	6,13	7785,36	138,04	2856,94	0,94	3,06	8495,19	1,16	9881,38	0,79	2943,1	7,33	32,65	0,01	1774,18	0,7	1031,07	
β-Acides	26,62	0,47	6324,15	1,59	217,21	15,05	1104,23	1,59	7,3	976,41	2,95	1,87	149,55	30,1	1911,44	4,21	0,08	845,07	1,08	139,17	127,15	413,5	17,1	5,66	0,06	981,13	0,07	4304	
Total µg/g de cônes	527,43	2,34	11162,84	7,46	645,88	910,03	5552,17	127,55	321,71	4341,72	158,51	20,83	7969,14	184,64	5601,98	7,11	5,23	9366,47	3,28	10055,53	129,13	3380,27	70,46	76,29	5,04	2832,04	5,62	5356,54	

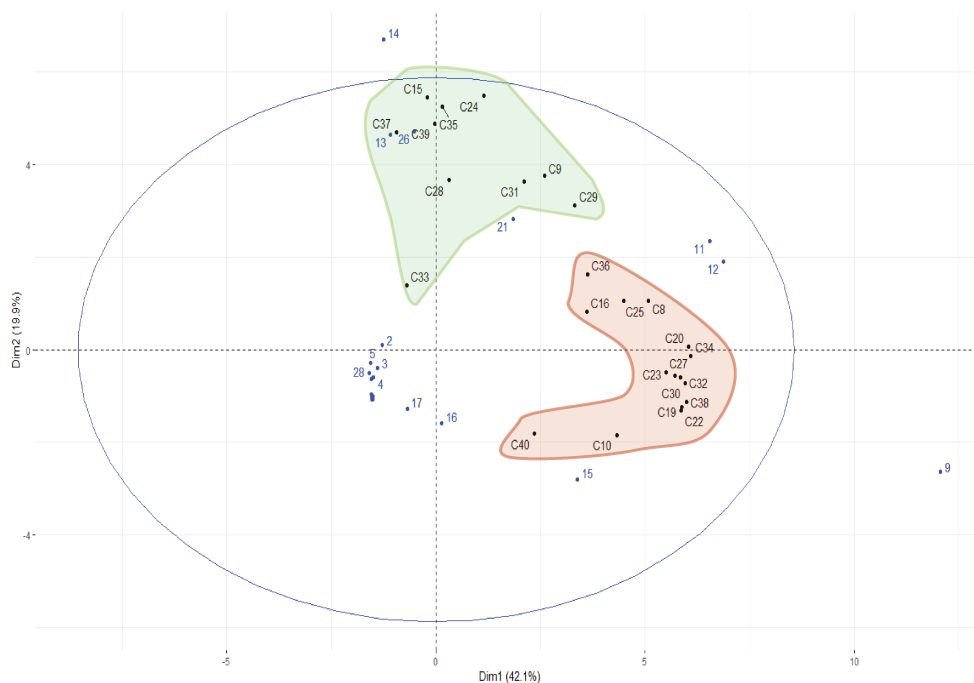


Figure 72 : ACP et cercle de corrélation des fractions lourdes des houblons corses spontanés

Sur la Figure 72, aucune caractéristique géographique n'a pu être corrélée à la répartition en deux groupes, ce qui signifie que les houblons corses spontanés présentent une grande diversité intraspécifique. Cependant, le groupe vert n'est constitué que des échantillons prélevés en 2020 (C9 ; C15 ; C24 ; C28-C29 ; C31 ; C33 ; C35 ; C37 ; C39) et le groupe rouge n'est constitué que des échantillons prélevés en 2019 et 2021. Il est très probable que l'année de récolte et tous les facteurs climatiques afférents aient un impact majeur sur le profil chimique des fractions lourdes.

Les composés les plus éloignés à l'extérieur du cercle de corrélation (en bleu) sont les marqueurs les plus discriminants pour la formation de ces deux groupes. Il s'agit du xanthohumol [14] qui se trouve en plus fortes teneurs dans les échantillons de 2020 et des  $\alpha$ -acides usuels (cohumulone [9], humulone [11] et adhumulone [12]) qui sont beaucoup plus abondants dans les échantillons de 2019 et 2021. Cette corrélation négative entre les teneurs en  $\alpha$ -acides et en xanthohumol est à souligner, car elle est en opposition aux observations de Krofta et al (2005)<sup>115</sup> qui affirmait une corrélation positive entre les teneurs de ces composés.

Quoi qu'il en soit, l'influence des variations climatiques entre les trois années de récolte mis en exergue par l'analyse statistique des fractions lourdes des houblons corses spontanés est

confirmée, car l'impact du climat sur les teneurs en  $\alpha$ -acides et xanthohumol du Houblon montré par la Figure 72 est clairement décrit dans la littérature<sup>115,116</sup>.

### E. Impact de la mise en culture des houblons spontanés de Corse et des cultivars transplantés

Pour déterminer l'influence du sol littoral corse (Patrimonio) sur la composition chimique des fractions lourdes du Houblon, un houblon corse (station de Corte) et trois cultivars commerciaux allemands ont été transplantés dans l'houblonnière expérimentale Ribella. La clé de nomenclature des échantillons est donnée dans le *Chapitre 2*. Les extraits analysés par CL-SM/SM en mode MRM ont été obtenus, comme précédemment, selon le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. Cette étude concerne la station de Corte (cultivé : C4-C6 ; spontané : C8-C10) et les trois houblons commerciaux Cascade (V4-V6 ; V18), Tettnanger (V7-V8) et Smaragd (V10-V11). Les rendements de ces macérations sont donnés dans le Tableau 21.

Tableau 21 : Rendements des macérations des houblons transplantés

Houblons	Récolte	Code échantillon	Rendements d'extraction (%)
Cascade	Allemagne 2019	V4	0,36 ± 0,03
	Corse 2019	V5	0,12 ± 0,00
	Corse 2020	V6	0,16 ± 0,00
	Corse 2021	V18	0,23 ± 0,04
Smaragd	Allemagne 2019	V7	0,42 ± 0,01
	Corse 2019	V8	0,09 ± 0,00
Tettnanger	Allemagne 2019	V10	0,40 ± 0,00
	Corse 2019	V11	0,15 ± 0,06
Corte	Spontané 2019	C8	0,05 ± 0,01
	Spontané 2020	C9	0,08 ± 0,01
	Spontané 2021	C10	0,07 ± 0,00
	Cultivé 2019	C4	0,12 ± 0,02
	Cultivé 2020	C5	0,11 ± 0,00
	Cultivé 2021	C6	0,10 ± 0,00

Ces rendements d'extraction correspondent à la part de composés solubles dans le mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (50 : 50) dans 1g de cônes de houblon (principalement  $\alpha$ -,  $\beta$ -acides et flavonoïdes).

En ce qui concerne les cultivars commerciaux, les rendements d'extraction sont plus importants pour les pieds demeurés sur le sol allemand (V4 ; V7 ; V10) que pour leurs homologues transplantés. La transplantation est donc cause d'une diminution immédiate du rendement d'extraction (Cascade : V4 → V5, respectivement 0,36 ↘ 0,12. Smaragd : V7 → V8, respectivement 0,42 ↘ 0,09. Tettninger : V10 → V11, respectivement 0,40 ↘ 0,15), qui pourrait s'expliquer par le haut stress engendré, chez le végétal, lors de son transport et de sa transplantation. L'hypothèse selon laquelle les caractéristiques pédoclimatiques de la Corse seraient la cause de cet appauvrissement est à écarter, car dès les premières années après la transplantation, le rendement tend, de nouveau, à augmenter considérablement (V5 → V6 → V18, respectivement 0,12 ↗ 0,16 ↗ 0,23). Cette étude conduit à penser à une acclimatation rapide des cultivars transplantés au littoral corse, mais un plus long suivi est nécessaire afin d'étayer cette observation.

Au niveau des échantillons de houblon de Corte, les rendements d'extraction sont plus importants pour les plants mis en culture que pour les pieds poussant spontanément la même année (2019 : C8 = 0,05 ; C4 = 0,12. 2020 : C9 = 0,08 ; C5 = 0,11. 2021 : C10 = 0,07 ; C6 = 0,10). Il est fort probable que la cause de l'augmentation des teneurs en composés solubles dans le mélange (majoritairement  $\alpha$ -acides,  $\beta$ -acides et flavonoïdes) soit effectivement la mise en culture, car il est connu que la transplantation d'un végétal spontané vers un milieu de culture tend à modifier quantitativement et qualitativement sa composition chimique<sup>117</sup>.

L'analyse par CL-SM/SM de ces extraits a conduit à l'identification des 28 composés recherchés (Tableau 16 et Tableau 19). Leur quantification réalisée en mode MRM est présentée dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Composition chimique des fractions lourdes des houblons transplantés ( $\mu\text{g/g}$  de cônes)

	V4	V5	V6	V7	V8	V10	V11	V18	C4	C5	C6	C8	C9	C10
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	1,21	0,00	4,08	0,55	0,11	0,22	0,03	7,71	0,35	0,65	1,07	0,02	0,15	0,39
3	0,70	0,00	2,87	0,25	0,07	0,13	0,01	6,92	0,27	0,69	0,88	0,02	0,05	0,47
4	2,43	0,00	8,25	1,11	0,13	0,58	0,00	8,89	0,41	0,86	4,03	0,01	0,00	0,53
5	1,05	0,00	14,24	3,09	1,22	2,64	0,16	6,61	1,53	5,71	8,27	0,04	0,00	0,75
6	0,21	0,04	1,21	0,21	0,18	0,16	0,00	1,82	0,23	0,75	1,37	0,01	0,00	0,31
7	0,42	0,06	0,20	0,20	0,03	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00



8	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02
9	215,66	10,25	1229,85	1073,52	250,20	35,54	20,30	28875,67	72,65	0,00	5554,64	99,46	0,00	2762,64
10	0,54	0,20	0,81	0,53	0,14	0,23	0,15	0,52	0,07	0,05	0,15	0,03	0,02	0,05
11	338,16	1,89	434,64	8699,64	673,23	114,78	21,92	4360,33	288,22	1,35	112,24	178,51	0,50	911,21
12	428,76	2,79	500,14	1892,52	746,95	154,47	28,82	4995,44	364,59	1,63	398,96	220,14	0,37	1154,72
13	7,49	2,30	16,01	7,49	1,42	2,64	1,43	0,27	1,08	0,47	0,45	0,49	0,15	0,16
14	20,57	2,25	9,48	36,03	4,44	7,05	1,50	4,07	4,35	0,39	4,43	1,60	0,00	3,35
15	0,00	0,00	15,71	0,00	71,98	0,00	0,00	1353,74	0,00	0,00	7160,34	2,48	0,00	4805,74
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	121,26	0,00	0,00	758,69	0,00	0,00	1140,98
17	6,40	0,00	85,81	4,98	110,46	19,99	0,14	856,00	29,77	0,02	531,14	23,96	0,00	374,86
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01
21	0,70	0,60	1,63	0,89	0,75	1,16	1,56	18,45	0,38	6,91	3,67	0,46	0,62	3,64
22	0,26	0,00	0,00	0,00	0,06	0,14	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
23	0,39	0,00	0,00	0,01	0,03	0,06	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	0,74	0,00	0,00	0,01	0,03	0,10	0,00	0,02	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
25	1,60	0,00	0,02	0,01	0,11	0,34	0,00	2,42	0,67	0,00	0,73	0,00	0,00	0,43
26	84,58	8,65	14,64	36,98	9,09	12,29	2,44	3,53	24,93	0,03	0,10	0,15	0,40	0,27
27	35,39	0,01	0,03	0,02	2,94	12,74	0,01	1,62	9,59	0,00	0,54	0,01	0,01	0,31
28	65,40	0,06	0,01	0,07	6,15	22,57	0,02	4,99	24,64	0,09	1,34	0,02	0,06	1,99
<b><math>\alpha</math>-Acides</b>	<b>985,57</b>	<b>14,93</b>	<b>2164,65</b>	<b>11665,71</b>	<b>1670,61</b>	<b>305,43</b>	<b>71,04</b>	<b>38233,88</b>	<b>726,65</b>	<b>2,98</b>	<b>6066,57</b>	<b>498,11</b>	<b>0,87</b>	<b>4829,01</b>
<b><math>\beta</math>-Acides</b>	<b>191,77</b>	<b>8,72</b>	<b>116,2</b>	<b>42,05</b>	<b>200,62</b>	<b>67,59</b>	<b>2,61</b>	<b>2341,14</b>	<b>88,93</b>	<b>0,14</b>	<b>8452,15</b>	<b>26,62</b>	<b>0,47</b>	<b>6324,15</b>

Au niveau des trois cultivars commerciaux (Tableau 22), les teneurs en  $\alpha$ -acides usuels (cohumulone, humulone, adhumulone) décroissent drastiquement immédiatement après la transplantation (ex humulone [11] : Cascade Allemagne 2019 (V4) = 338,16 $\mu$ g/g de cônes ; Cascade transplanté Corse 2019 (V5) = 1,89 $\mu$ g/g de cônes). La diminution du rendement d'extraction corrélée supra au stress lié à la transplantation confirme, à nouveau, l'influence du changement de terroir sur la composition des fractions lourdes du houblon. De la même manière, les caractéristiques pédoclimatiques particulières de la Corse ne peuvent pas être en cause de cet appauvrissement en  $\alpha$ -acides, car dès les premières années après la transplantation, les teneurs tendent à augmenter de nouveau (ex humulone [11] : Cascade transplanté Corse 2019 (V5) = 1,89 $\mu$ g/g de cônes ; Cascade transplanté Corse 2020 (V6) = 434,64 $\mu$ g/g de cônes ; Cascade transplanté Corse 2021 (V18) = 4360,33 $\mu$ g/g de cônes). Ceci confirme une acclimatation rapide des cultivars transplantés au littoral corse.

Au niveau des échantillons de houblon de Corte (Tableau 22), les teneurs en polyphénols, coumarines,  $\alpha$ -acides non usuels et  $\beta$ -acides sont plus importantes pour les plants mis en culture que pour les pieds poussant spontanément la même année (2019 : C8  $\rightarrow$  C4 = 23,96  $\nearrow$  29,77 ;

2020 : C9 → C5 = 0,00 ↗ 0,02 ; 2021 : C10 → C6 = 374,86 ↗ 531,14μg/g de cônes). Ceci est en adéquation avec les observations concernant les rendements d'extraction et confirme l'hypothèse exposée supra selon laquelle la cause de cette augmentation serait la mise en culture.

Une analyse statistique a été réalisée sur cette quantification de composés phénoliques et d'α- et β-acides en suivant le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. L'ACP présentée en Figure 73 définit trois groupes parmi les houblons transplantés dans l'houblonnière expérimentale Ribella.

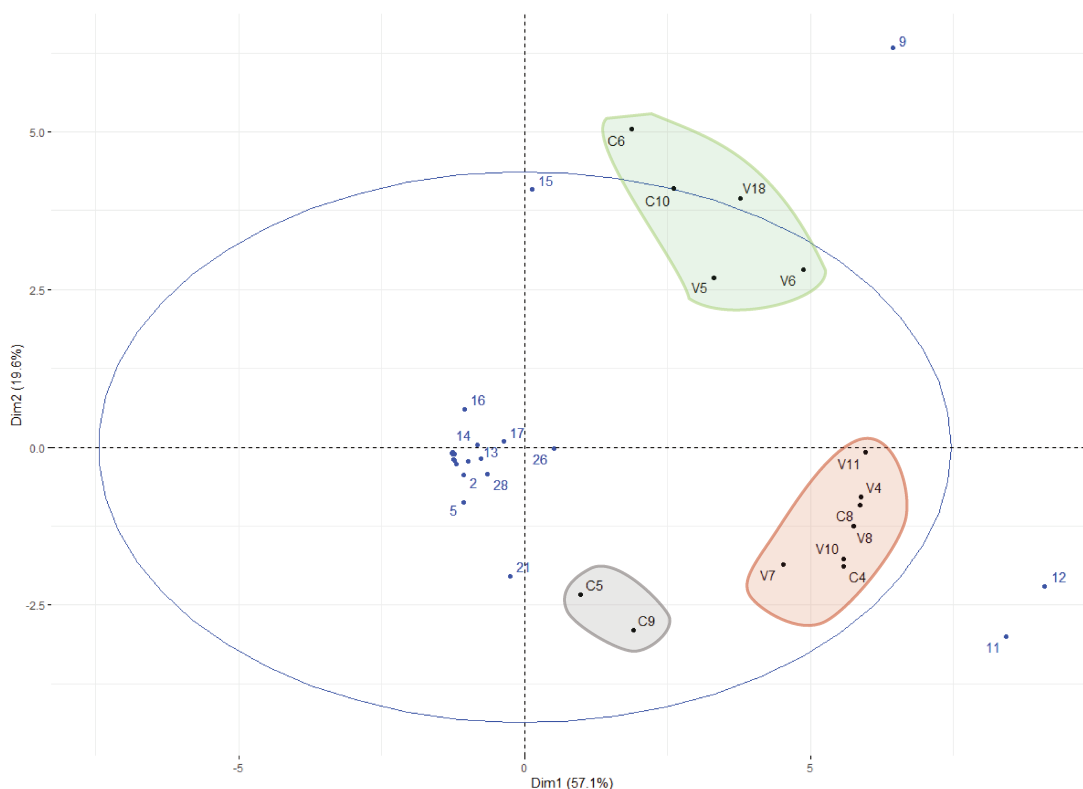


Figure 73 : ACP des fractions lourdes des houblons transplantés

Les houblons corses (i) C4 (Corte cultivé 2019) et C8 (Corte spontané 2019), (ii) C5 (Corte cultivé 2020) et C9 (Corte spontané 2020) ainsi que (iii) C6 (Corte cultivé 2021) et C10 (Corte spontané 2021) se regroupent respectivement dans les clusters rouge, gris et vert. De la même manière que pour les houblons spontanés analysés supra, ce regroupement définit l'année de récolte comme principal facteur discriminant. Cette hypothèse est étayée par la présence des cultivars commerciaux de 2019 (V4 ; V7 ; V8 ; V10 ; V11) dans le même groupe rouge. Notons toutefois que le cultivar Cascade semble moins dépendant de ce facteur annuel, car tous les

plants transplantés dans l’houblonnière expérimentale (V5 ; V6 ; V18), indépendamment de leur année de récolte, se retrouvent dans le même cluster vert.

Le cluster vert est fortement corrélé à une abondance de cohumulone [9]. Le cluster rouge est fortement corrélé à une abondance de humulone [11] et d’adhumulone [12]. Le cluster gris, quant à lui, semble plutôt corrélé à de faibles teneurs en colupulone [15] (échantillons situés à l’opposé du composé [15] sur le cercle de corrélations). Cette information confirme l’hypothèse précédemment énoncée concernant l’influence des variations climatiques interannuelles sur les teneurs en  $\alpha$ -acides du Houblon<sup>115,116</sup>. L’influence de ces variations climatiques sur les teneurs en  $\beta$ -acides (colupulone) est mis en lumière dans notre étude et n’avait auparavant, à notre connaissance, jamais été exposée dans la littérature.

Une dernière ACP de tous les échantillons (Figure 74) a été réalisée afin de visualiser dans son ensemble l’impact de l’année de récolte sur la composition des fractions lourdes.

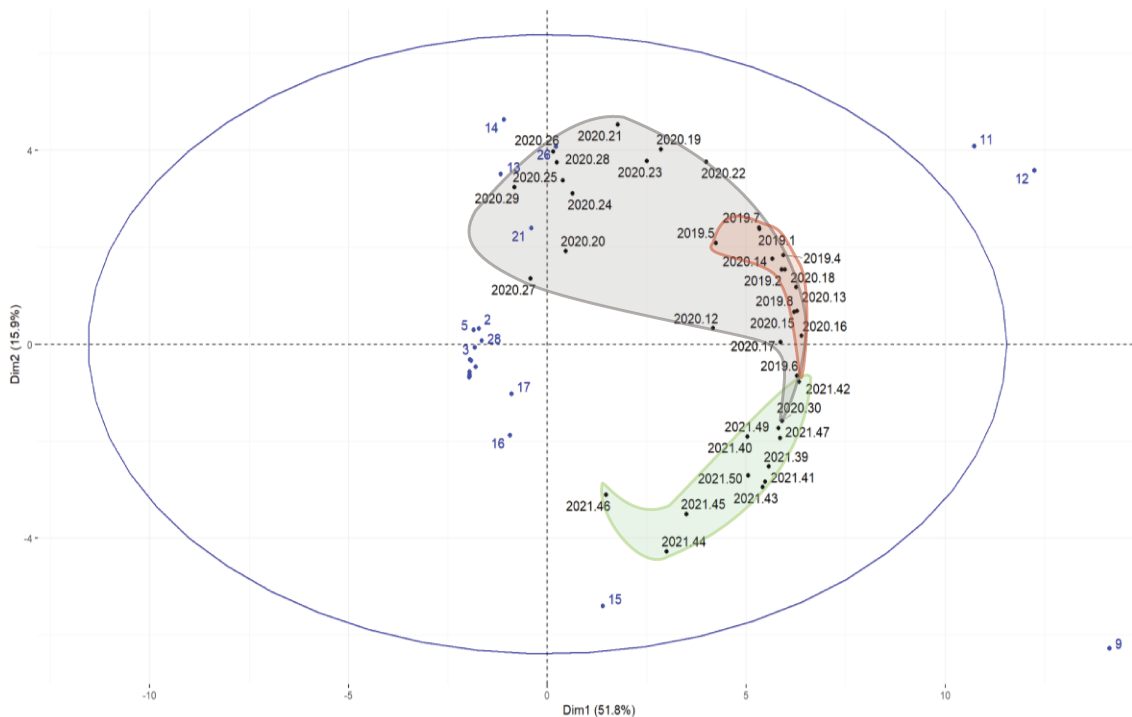


Figure 74 : ACP des fractions lourdes de tous les échantillons

Même si les clusters obtenus se superposent parfois, la distinction entre les trois années de récolte demeure évidente. Comme précédemment, les échantillons récoltés en 2021 sont corrélés à une abondance de cohumulone [9], les échantillons de 2019 sont corrélés à une abondance de humulone [11] et d’adhumulone [12] et les échantillons de 2020 sont corrélés à

de faibles teneurs en colupulone [15]. L'influence des variations climatiques interannuelles sur les teneurs en  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides du Houblon est confirmée.

## F. Réseaux moléculaires

La caractérisation chimique non ciblée d'un mélange complexe par CL-SM/SM se fait généralement au moyen de chromatogrammes « *full scan* » et de comparaisons des spectres de masse avec ceux contenus dans des bases de données. Cette méthode laborieuse devient très complexe lorsque le laboratoire ne possède pas de banque suffisamment développée. Pour pallier la complexité d'élucidation d'un grand nombre de constituants du vivant, une approche bio-informatique nommée « réseaux moléculaires » a été mise au point<sup>118</sup>. Cette approche est capable d'organiser, de compiler et de visualiser des données SM/SM sous la forme de carte de similarité spectrale, mettant en lumière l'existence de groupes spectraux. La caractérisation d'un nœud du réseau, c'est-à-dire d'un constituant du mélange, facilite la résolution de tous les nœuds qui y sont attachés et permet, de ce fait, l'élucidation de la composition chimique d'un mélange complexe beaucoup plus rapidement<sup>119</sup>.

Dans ce but, une analyse métabolomique des fractions lourdes de cônes de houblon de Corse a été envisagée dans le cadre de ce travail de Thèse. En appliquant le protocole décrit dans la **Partie Expérimentale**, les empreintes spectrales de cinq échantillons de houblon - dont (i) trois corses : C8 (Corte spontané 2019), C4 (Corte cultivé 2019), C15 (Canale spontané 2020) et (ii) deux cultivars commerciaux : V3 (American Cascade 2017), V13 (Brewer's Gold) ont été exploitées sous la forme d'un réseau moléculaire présenté dans la Figure 75. Chaque nœud représente un composé chimique et est lié aux autres en fonction de leur similarité spectrale. Sur chaque nœud est annoté l'ion moléculaire  $m/z$   $[M+H^+]$  correspondant. L'épaisseur des liens est proportionnelle à la similarité spectrale, car dépendante de l'indice de corrélation appelé similarité cosinus (ou *cosine score*). Sur chaque lien est indiquée la perte de masse entre deux nœuds.

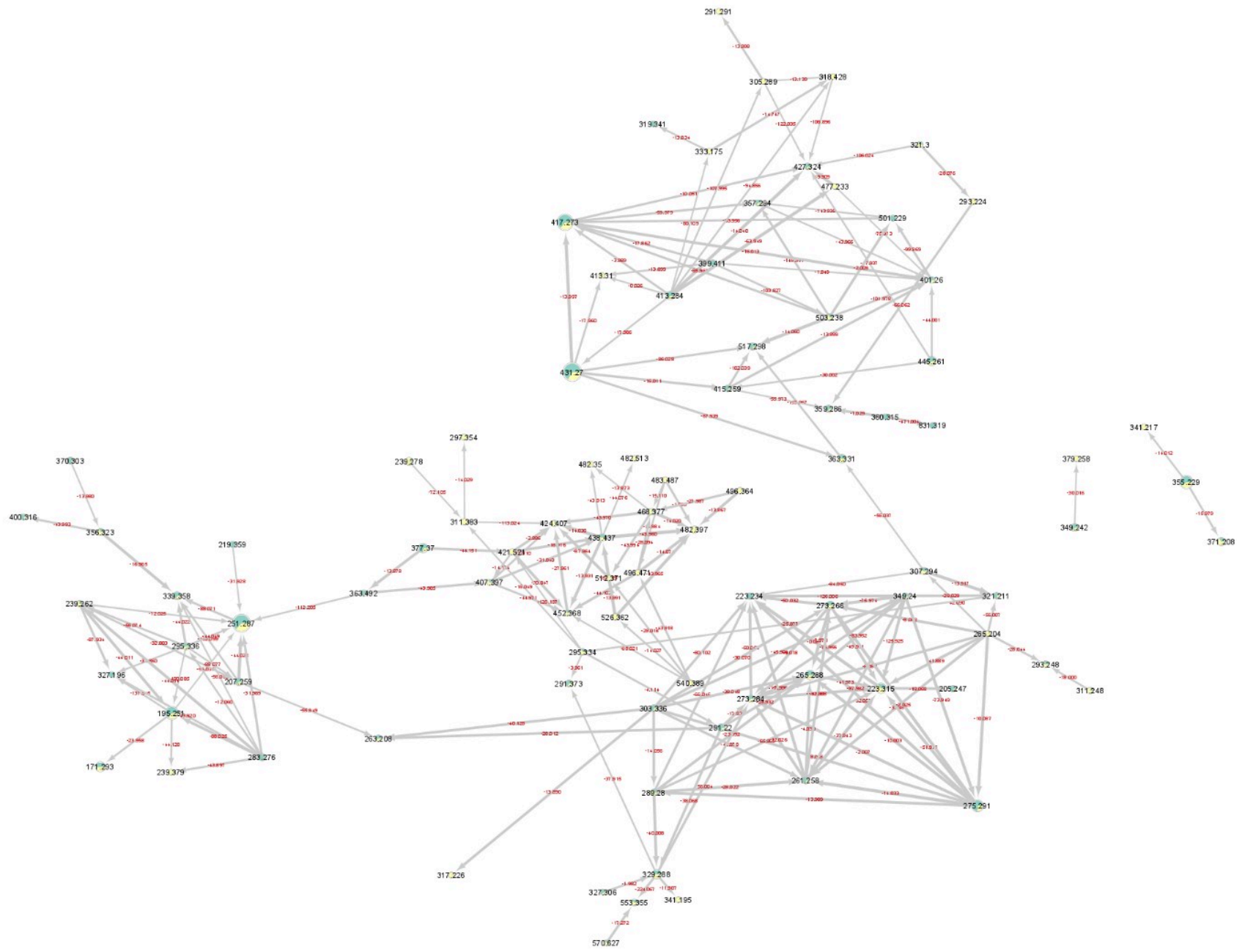


Figure 75 : Réseau moléculaire des fractions lourdes des cônes de houblon

Le réseau en Figure 75 illustre la similarité entre 90 composés chimiques présents dans les extraits analysés. Une attention particulière a été portée sur les dérivés des  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides. Dans le cluster supérieur, le nœud annoté à  $m/z = 415,259$  correspond à un empilement de spectres de masse connus et répertoriés dans notre base de données : il s'agit de ceux de la lupulone, dont l'un d'eux est présenté en Figure 76.

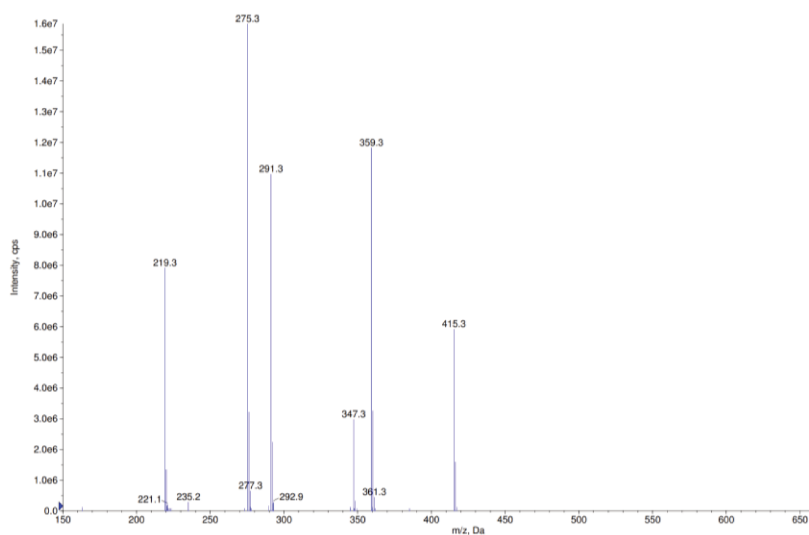


Figure 76 : Spectre de masse de la lupulone dans Cascade V3

L'étude de la fragmentation ESI (*electrospray ionization*) en mode positif de la lupulone est présentée en Figure 77. Celle-ci est en adéquation avec les voies décrites dans la littérature<sup>120</sup> et confirmée par le spectre de masse en Figure 76 dont chaque pic correspond à un ion fragment.

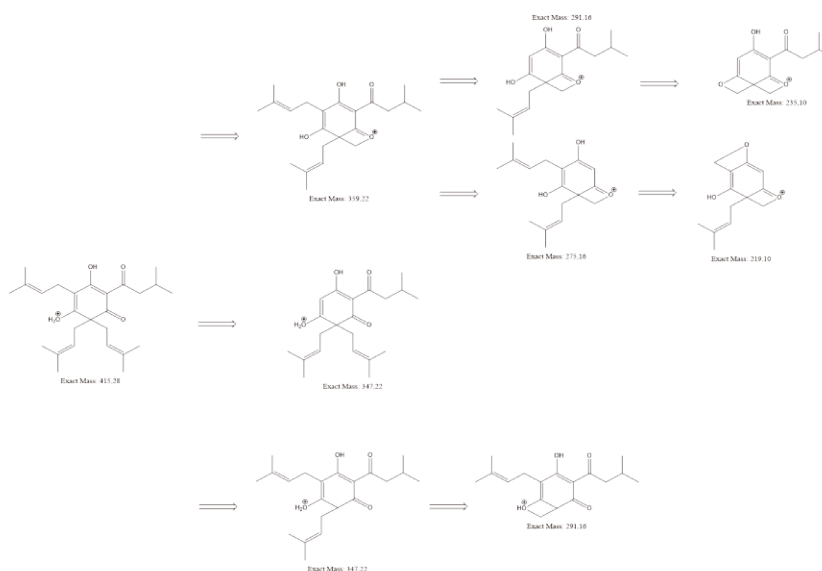


Figure 77 : Proposition de voie de fragmentation de la lupulone

De la même manière, d'autres nœuds représentent des composés présents dans notre base de données : la colupulone, la 8-prénylnaringénine, le xanthohumol, l'humulone et la cohumulone, respectivement à  $m/z = 401,26 ; 341,217 ; 335,229 ; 363,331 ; 349,24$ . Leur identification a été confirmée par une étude de la fragmentation et une comparaison avec les spectres de masse.

Sur ces spectres, il arrive parfois que le réseau considère à tort un pic de base comme l'ion moléculaire. Dans le cluster supérieur, le nœud annoté 359,286 superpose cinq spectres de masse très similaires à ceux de la lupulone. Le pic à 359,286 résulte en réalité de l'ion fragment présenté en Figure 78, mais le véritable ion moléculaire est à 415,259, ce qui correspond à l'isomère de position de la lupulone appelé adlupulone, déjà identifié et quantifié dans nos extraits.

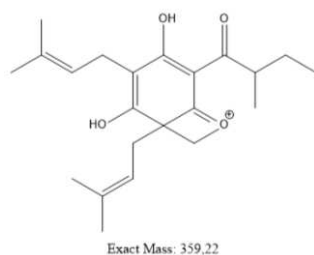


Figure 78 : ion fragment à 359,286

Dans un second temps, le réseau a été soumis à une comparaison spectrale avec les bases de données en ligne<sup>121</sup>. Peu de molécules ont pu être identifiées, car ces bases sont centrées sur la caractérisation des métabolites secondaires humains plutôt que végétaux et qu'à notre connaissance, aucun réseau moléculaire des fractions lourdes du houblon n'a été publié à ce jour. Néanmoins, sept composés supplémentaires ont pu être annotés, à savoir la 4-méthoxy-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one, l'acide (2E)-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2-propénoïque, l'hexaéthylène glycol, la bonactine, l'oxymétazoline, l'acide eicosénoïque et la physostigmine.

À partir de la littérature, une liste complète des composés connus du houblon a été dressée. Les ions moléculaires résultant de leur ionisation en mode positif ont été comparés avec ceux présentés sur notre réseau, puis en cas de correspondance, une étude poussée de leur fragmentation a été réalisée. La structure des composés de  $m/z = 413,31$  et  $413,284$  a été déterminée sur la base de l'étude de leur fragmentation présentée en Figure 80 et d'une

comparaison avec leur spectre de masse (ex : Figure 79) ; il s'agit de deux stéréoisomères (4aR) et (4aS) de la lupulone A.

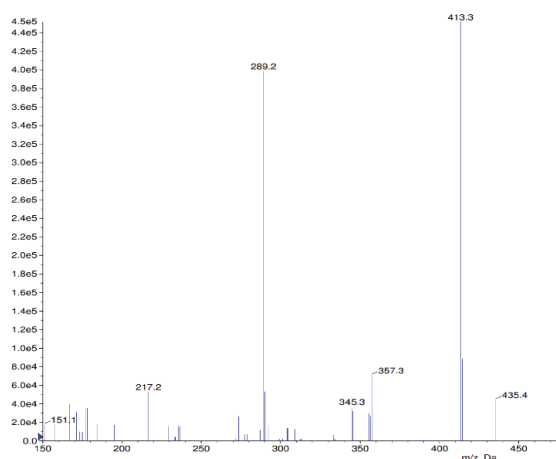


Figure 79 : Spectre de masse du nœud à m/z = 413,31

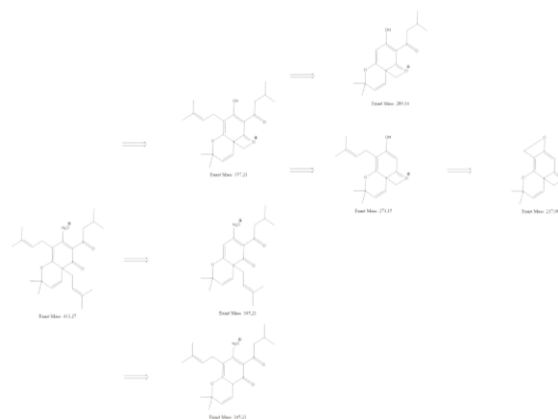


Figure 80 : Voie de fragmentation proposée : lupulone A

Dix-sept composés (Tableau 24) ont été identifiés de cette manière, dont les lupulones (4aR)A, -(4aS)A, -B, -C et -E. Deux composés ont été identifiés comme étant des sesquiterpènes bicycliques, mais leur structure exacte n'a pas pu être déterminée par spectrométrie de masse.

Pour finir, par sa proximité sur le réseau avec la lupulone et la colupulone, et de par son éloignement des autres lupulones, il est fort probable que le nœud annoté 445,261 corresponde à un composé structurellement proche de ces deux premiers  $\beta$ -acides. Le composé non-identifié (NI) présente un gain de masse de 30,002 et 44,001 avec la lupulone et la colupulone, respectivement. Ces faibles différences et un cosinus score élevé (lien épais sur le réseau) laissent supposer la conservation du noyau «  $\beta$ -acide » illustré dans la

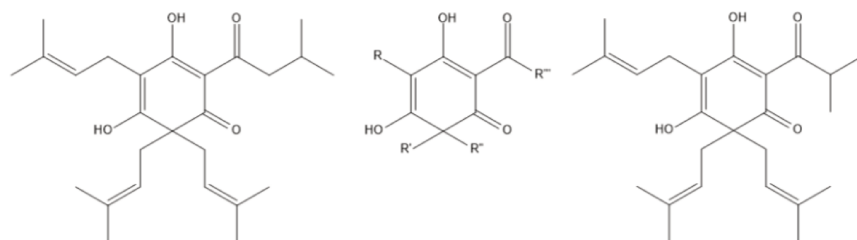


Figure 81. La comparaison des spectres de masse de ces trois composés (Tableau 23) confirme cette similarité.



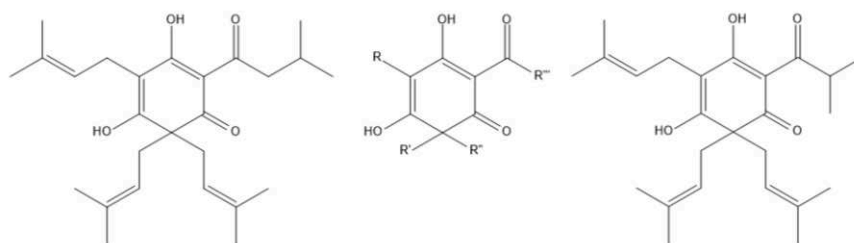


Figure 81 : De gauche à droite : lupulone, noyau «  $\beta$ -acide », colupulone

Tableau 23 : Ions fragments SM de la lupulone, de la colupulone et du NI de  $m/z = 445,261$

Fragments équivalents	Pics de lupulone	Pics de la colupulone	Pics du NI
Adduit Na <sup>+</sup>			467,2
Isotope [M+2]	417,3	403,3	447,3
Isotope [M+1]	416,3	402,3	446,3
Ion moléculaire	415,3	401,3	445,3
Perte de 56	359,3	345,2	389,3
Perte de 68	347,3	333,3	377,2
Perte de 86			359,1
Perte de 124	291,3	277,3	321,1
Perte de 126		275,3	
Perte de 140	275,3		
Perte de 170			275,3
Perte de 180	235,1	221,1	265,2
Perte de 182		219,2	
Perte de 196	219,2		
Perte de 226			219,2

Les pertes communes aux trois molécules sont de 56, 68, 124 et 180. Sur la lupulone et la colupulone, ces pertes correspondent à une fragmentation décrite dans la Figure 82.

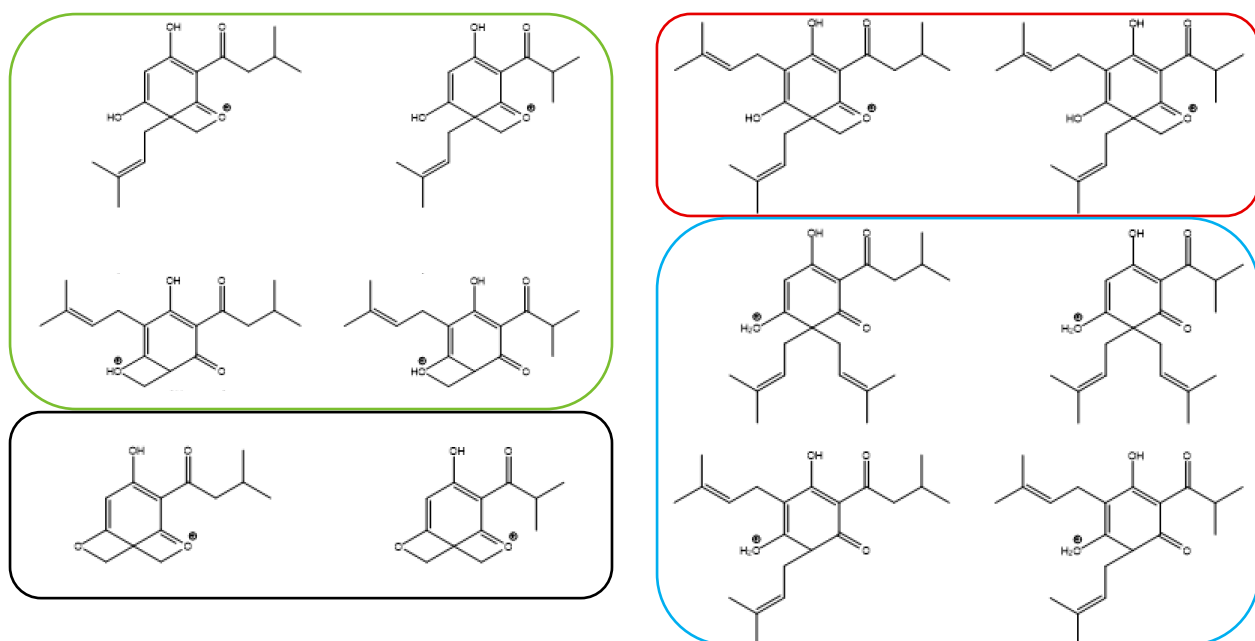


Figure 82 : Pertes de **56**, **68**, **124** et **180** communes à la lupulone (gauche) et la colupulone (droite)

Comme les mêmes pertes se retrouvent dans le composé inconnu NI, les différences structurales ne peuvent pas se situer sur les fragments sortants, ce qui signifie qu'elles sont forcément portées par la chaîne carbonylée. Les fragments à 219 et 275 communs aux trois molécules qui correspondent à la perte de cette chaîne carbonylée confirment cette théorie. La différence de  $m/z = 30$  (ici, avec la lupulone) correspond généralement à la présence d'un méthoxyle. Dans notre cas, cette éventualité est peu probable, car ces groupements s'ionisent très bien en spectrométrie de masse et ont tendance à se fragmenter préférentiellement, conduisant à un ion à  $m/z = 415$  absent du spectre de masse du composé recherché. Néanmoins, on remarque un faible pic à  $m/z = 359,1$  pouvant correspondre à la perte du groupement  $-O-C_5H_{11}$ , qui signifierait la présence d'un groupement ester (alcoyle en  $\alpha$  du carbonyle). Une confirmation par RMN est indispensable, car les variations spectrales correspondant aux bras carbonylés des trois molécules comparées sont trop faibles pour être différenciées par spectrométrie de masse. En l'état, la structure proposée est celle du 2,4-dihydroxy-3,5,5-tris(3-méthylbut-2-ényl)-6-oxocyclohexa-1,3-diène-1-méthanoate de pentan-2-yle (Figure 83).

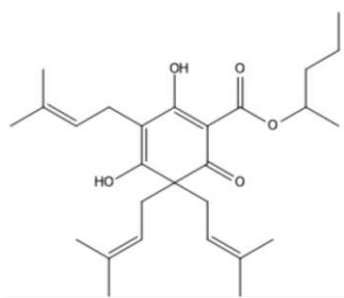


Figure 83 : Structure proposée pour le composé NI à  $m/z = 445,261$

Un total de trente-quatre composés (Tableau 24 ; Figure 84) a été identifié dans les cônes de houblon par la méthode des réseaux moléculaires en spectrométrie de masse sur les quatre-vingt-dix composés détectés. Parmi eux, (i) sept étaient présents dans la base de données du laboratoire, (ii) sept étaient présents dans les bases de données en ligne des réseaux moléculaires GNPS<sup>121</sup>, mais n'avaient jamais été décrits dans le houblon, (iii) dix-neuf ont été identifiés par une étude de la fragmentation couplée à une recherche bibliographique et (iv) un a été théorisé en fonction de sa position dans le réseau, de son spectre de masse et de la fragmentation de la lupulone considérée comme similaire. Cette dernière molécule n'a jamais été décrite dans la littérature.

Tableau 24 : 34 composés identifiés dans le réseau moléculaire

Technique d'identification	Composés
(i)	Lupulone
	Humulone
	Cohumulone
	Colupulone
	Adlupulone
	Xanthohumol
	8-prénylnaringénine
(ii)	4-méthoxy-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one
	Acide (2E)-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2-propénoïque
	Hexaéthylène glycol
	Bonactine
	Oxymétazoline
	Acide eicosénoïque
(iii)	Physostigmine
	Gallocatéchine

	Humulinone
	Lupulone (4aR)A
	Lupulone (4aS)A
	Lupulone B
	Lupulone C
	Lupulone E
	Cohulupone
	Hulupone
	Desméthylxanthohumol J
	Xanthohumol B
	Naringénine
	Acide hulupinique
	Chalconaringénine
	Catéchine
	Quercétine
	2-méthyl-1-[2,4,6-trihydroxy-3-(3-méthyl-2-butényl)phényl]-1-propanone
	Sesquiterpène bicyclique 1
	Sesquiterpène bicyclique 2
(iv)	2,4-dihydroxy-3,5,5-tris(3-méthylbut-2-ényl)-6-oxocyclohexa-1,3-diène-1-méthanoate de pentan-2-yle



## IV. Composés phénoliques et amérisants des tiges et feuilles

Des macérations d'un mélange de feuilles et de tiges de houblon ont été réalisées, puis analysées par CL-SM/SM en suivant le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. Cette étude, couplée à celle supra concernant la composition chimique des huiles essentielles de tiges et feuilles du houblon, a pour but la mise en exergue d'une éventuelle valorisation de ces parties inutilisées du végétal. L'analyse a porté sur les trois cultivars commerciaux transplantés en Corse, chacun récolté en 2019 (V5 ; V8 ; V11) et en 2020 (V6 ; V9 ; V12), ainsi que sur trois houblons de Corse spontanés de 2020 (C9 ; C21 ; C31). Les teneurs en vingt-quatre composés ciblés sont présentées dans le Tableau 25.

*Tableau 25 : Composition chimique des fractions lourdes des feuilles et tiges de houblon ( $\mu\text{g/g}$  de cônes)*

Composé	V5	V6	V8	V9	V11	V12	C9	C21	C31
Hypéroside	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Datiscine	0,50	0,00	0,51	0,00	0,01	0,00	0,00	0,05	0,00
Kaempférol-3-O-rutinoside	0,24	0,00	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
Rutine	0,02	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00
Isoquercitrine	0,10	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00
Kaempférol-3-O-glucoside	0,08	0,00	0,73	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02	0,00
Quercétagétine	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Myricétine	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cohumulone	17,35	0,04	6,18	0,03	6,11	0,04	0,06	0,05	0,05
8-prénylnaringénine	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Humulone	21,20	0,02	4,01	0,01	2,93	0,01	0,02	0,09	0,01
Adhumulone	30,19	0,03	3,62	0,02	3,94	0,01	0,02	0,12	0,02
6-prénylnaringénine	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Xanthohumol	0,15	0,00	0,36	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Colupulone	0,00	5,39	0,00	0,04	0,00	0,02	0,02	4,91	0,01
Lupulone	0,00	12,85	0,00	0,12	0,00	0,12	0,04	16,18	0,04
Adlupulone	3,21	0,00	2,18	0,00	0,47	0,00	0,00	0,01	0,00
Posthumulone	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Humulinone	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Préhumulone	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Adpréhumulone	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,09	0,00
Cohulupone	0,01	0,02	0,50	0,03	0,00	0,04	0,03	0,03	0,05
Lupulone E	0,01	0,09	0,01	0,03	0,00	0,05	0,02	0,08	0,04
Prélupulone	0,02	0,08	0,02	0,04	0,01	0,05	0,12	0,34	0,09
<b><math>\alpha</math>-Acides</b>	<b>68,74</b>	<b>0,11</b>	<b>13,81</b>	<b>0,07</b>	<b>12,98</b>	<b>0,06</b>	<b>0,11</b>	<b>0,35</b>	<b>0,08</b>
<b><math>\beta</math>-acides</b>	<b>3,25</b>	<b>18,43</b>	<b>2,71</b>	<b>0,26</b>	<b>0,48</b>	<b>0,28</b>	<b>0,23</b>	<b>21,55</b>	<b>0,23</b>

La présence d' $\alpha$ - et  $\beta$ -acides et de xanthohumol dans les feuilles de houblon est décrite dans la littérature<sup>83</sup>. Ces composés de grand intérêt brassicole ont également été détectés dans nos échantillons. Une analyse statistique de cette composition chimique a été réalisée en suivant le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. La Figure 85 représente l'ACP des fractions lourdes des feuilles et tiges de houblon.

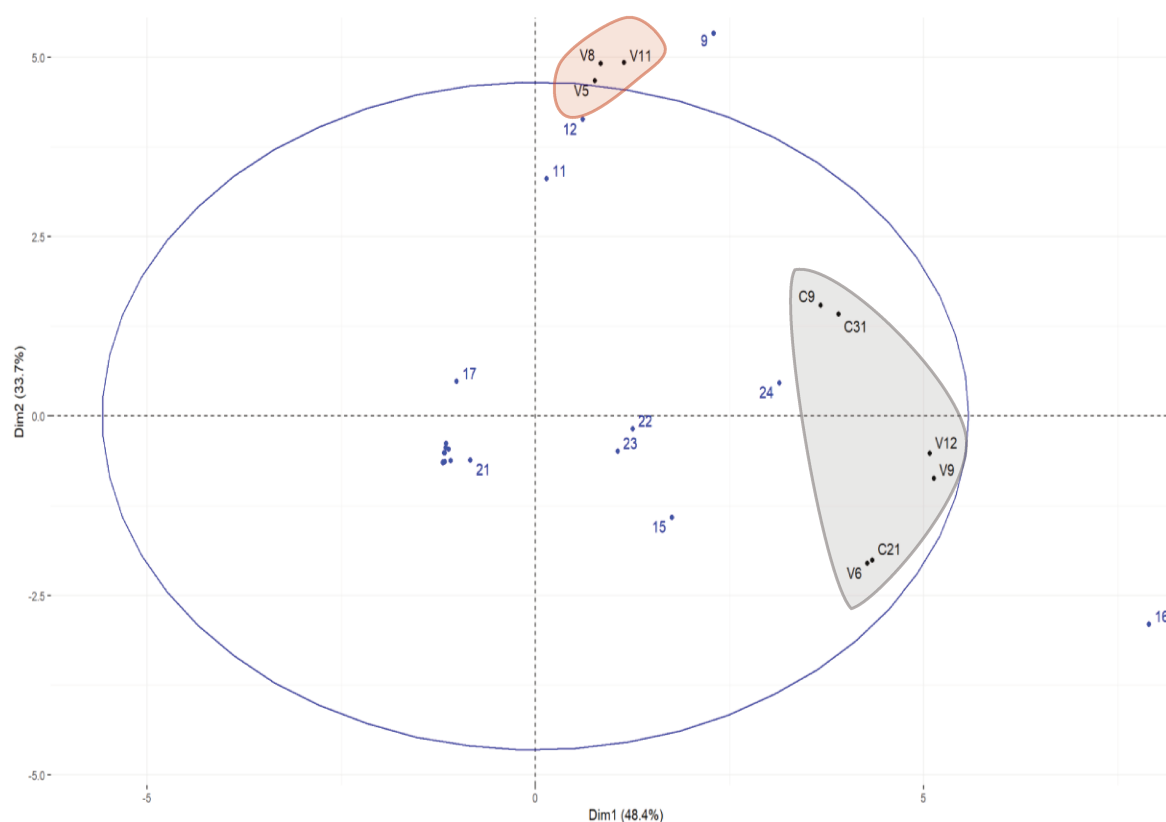


Figure 85 : ACP des fractions lourdes des feuilles et tiges

Sur la Figure 85, les échantillons sont répartis principalement en deux clusters. Le cluster rouge est constitué des trois cultivars commerciaux récoltés en 2019 (V5 ; V8 ; V11) tandis que le cluster gris regroupe tous les échantillons récoltés en 2020 (trois cultivars : V6 ; V9 ; V12 et trois houblons spontanés de Corse : C9 ; C21 ; C31). La cohumulone [9] (abondante dans les échantillons de 2019) et la lupulone [16] (abondante dans les échantillons de 2020) sont les composés chimiques les plus discriminants entre ces deux groupes et leurs teneurs dans les feuilles et tiges de houblon peuvent donc être considérées comme dépendantes de l'année de récolte et des caractéristiques climatiques inhérentes.

Si l'on neutralise l'influence de l'année de récolte en éliminant les échantillons de 2019 (Figure 86), les six échantillons restants forment deux nouveaux groupes distincts.

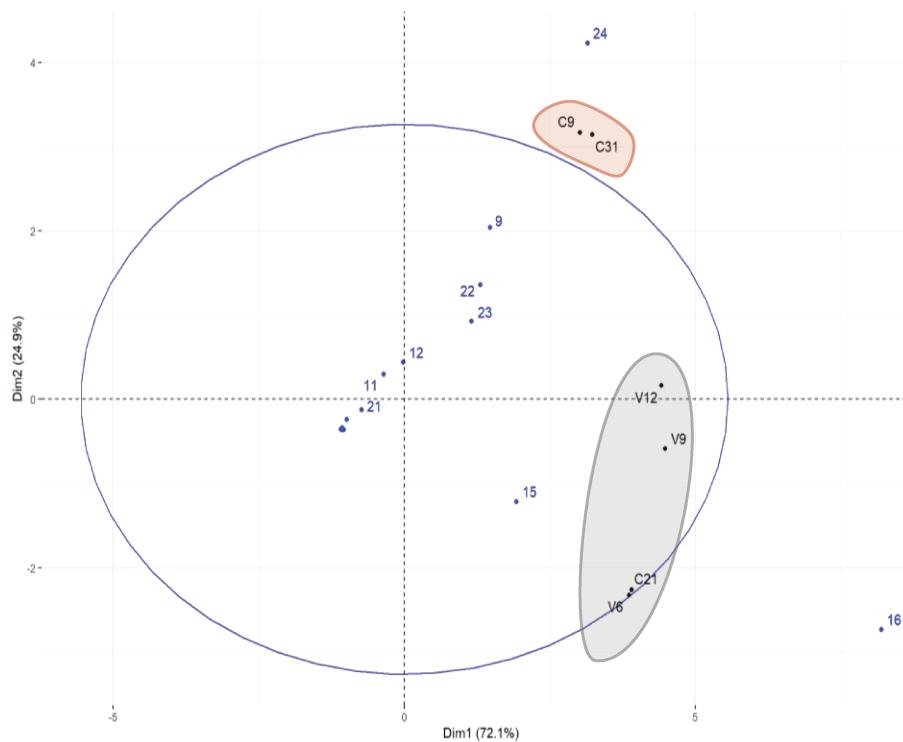


Figure 86 : ACP des fractions lourdes des feuilles et tiges des houblons de 2020

Sur la Figure 86, les échantillons de Cascade transplanté Corse 2020 (V6), Smaragd transplanté Corse 2020 (V9), Tettnanger transplanté Corse 2020 (V12) et Oletta spontané 2020 semblent toujours fortement corrélés à une abondance en lupulone [16]. Toutefois, la nouvelle ACP met en lumière une influence majeure de l'abondance de préhumulone [24] sur les échantillons de Corte spontané 2020 et Propriano spontané 2020. À notre connaissance, les sept  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides « non usuels » (Tableau 19) dont la préhumulone n'avaient jamais été détectés dans les feuilles et tiges de houblon avant cette étude. Ces composés encore peu étudiés pourraient faire l'objet d'une étude qualitative et quantitative approfondie sur un plus large panel d'échantillons.



## V. Approche préliminaire de la génétique du houblon de Corse

La caractérisation génétique de la biodiversité des houblons de Corse n'avait jamais fait l'objet d'une étude avant le début du présent travail. L'objectif de cette brève partie est d'évaluer les caractéristiques génétiques du houblon corse spontané afin d'identifier de nouvelles sources potentielles de matériel à des fins d'hybridation. Les analyses génétiques permettent la différenciation intraspécifique lorsque les caractérisations morphologiques et chimiques ne le permettent pas. Parmi les marqueurs moléculaires, les microsatellites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) sont connus comme étant des outils efficaces et précis pour déterminer les différences génétiques des végétaux d'une même espèce<sup>48,122-127</sup>.

Dans le cadre d'un partenariat avec l'Université de Parme, sept échantillons de feuilles de houblon de 2019 ont été soumis à une analyse génétique selon le protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*. Il s'agit de quatre houblons spontanés de Corse (Corte C8, Oletta C20, Ajaccio C23 et Patrimonio C41) et de trois cultivars commerciaux (Cascade Allemagne V4, Smaragd Allemagne V7, Tettninger Allemagne V10). Le profil génétique des sept échantillons, obtenu par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) de six marqueurs SSR dépendant de la localisation de pousse, est présenté dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Profil génétique des houblons corses spontanés et des cultivars transplantés en 2019

Marqueurs SSR	V4	V7	V10	C8	C20	C23	C41
<b>H1ACA3</b>	211	211	211	209	211	230	211
	211	223	239	231	233	236	239
<b>H1AGA7</b>	163	187	183	187	187	167	159
	187	212	209	187	187	187	181
<b>H1GA23</b>	241	243	287	295	295	243	243
	267	249	301	295	295	265	277
<b>H1GT14</b>	157	165	167	165	165	161	165
	169	167	167	165	165	167	167
<b>H1GT16</b>	233	233	209	215	229	229	215
	233	233	231	234	229	233	234
<b>H1GT17</b>	177	195	179	179	179	179	187
	187	195	195	179	179	187	187

Le dendrogramme résultant de l'analyse statistique réalisée sur ces données est présenté dans la Figure 87.

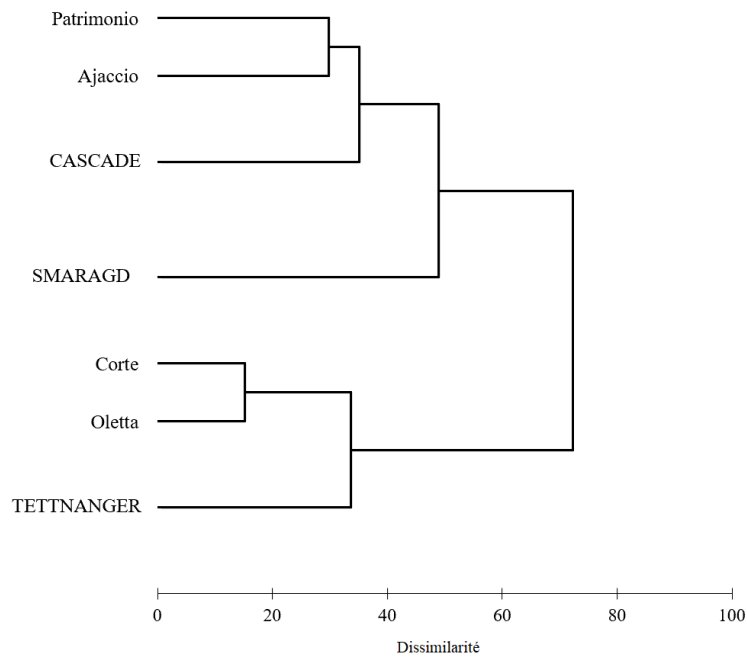


Figure 87 : Dendrogramme de l'analyse génétique des houblons

La population examinée est séparée en deux clusters principaux présentant un taux de dissimilarité de 76 % pour les marqueurs étudiés. Le premier cluster est constitué des échantillons de Patrimonio (C41), Ajaccio (C23), Cascade (V4) et Smaragd (V7). Les deux autres houblons corses spontanés, à savoir Corte (C8) et Oletta (C20), se regroupent sous le même cluster que le cultivar Tettanager (V10).

L'isolement de la station de Corte vis-à-vis des échantillons de Patrimonio et Ajaccio pourrait s'expliquer par des conditions pédoclimatiques très différentes, comme l'éloignement de la mer (Figure 25), l'altitude (Tableau 4), la pédologie (Figure 26) ou la pluviosité (Figure 46). Cependant, ces conditions particulières ne s'appliquent pas à la station d'Oletta dont l'échantillon s'éloigne, lui aussi, des deux houblons littoraux de Corse. À ce jour, aucune condition environnementale observée ne peut justifier de cette différenciation au sein des houblons spontanés du littoral corse.

Le cultivar Tettanager (V10) se rapproche des houblons de Corte (C8) et Oletta (C20). Cette affinité entre Tettanager et des houblons spontanés méditerranéens a déjà été observée<sup>123,128</sup>.

Par ce rapprochement, une hypothèse peut être avancée concernant l'origine probable de ces accessions corses en Europe centrale, berceau des ancêtres de Tettninger<sup>129</sup>. Le cultivar Cascade (V4), quant à lui, se rapproche des houblons de Patrimonio (C41) et Ajaccio (C23). À notre connaissance, cette affinité entre Cascade et des houblons spontanés méditerranéens n'a jamais été observée auparavant. Par ce rapprochement, une hypothèse peut, également, être avancée concernant l'origine probable de ces accessions corses en Grande-Bretagne, berceau des ancêtres de Cascade<sup>48</sup>. Étant donné qu'aucune donnée relative à la traçabilité du houblon corse n'existe, il est difficile d'estimer la manière et l'époque à laquelle le végétal s'est établi sur les différentes régions de l'île. Une analyse génétique sur la totalité des stations serait nécessaire à la confirmation de ces observations.

## VI. Contribution aux techniques de brassage de Ribella

Dans l'optique d'une amélioration des conditions et paramètres de brassage de la brasserie Ribella, une série d'analyses chimiques a été réalisée sur les fractions volatiles des bières. Ces améliorations sont un enjeu économique majeur pour la brasserie. Cette partie de la Thèse devait être corrélée à une analyse morphologique, chimique et génétique des premiers hybrides de houblon corses viables obtenus dans l'houblonnière Ribella, mais les interdictions sanitaires liées à la crise de COVID-19 ont engendré un retard d'une année empêchant les plants hybrides d'accéder au stade de leur cônaison.

### A. Développement d'une méthode d'extraction et d'analyse des composés volatils des bières

#### 1. Micro-extraction sur phase solide

La méthode d'extraction des composés volatils du houblon la plus usitée est la MEPS (Figure 88) ou SPME (Micro-Extraction sur Phase Solide). C'est une technique qui permet de réaliser une extraction et une concentration de composés qui se trouvent à l'état de traces dans un liquide ou un gaz. La méthode repose sur le principe d'adsorption des métabolites sur une phase stationnaire de silice greffée. La fibre doit être plongée dans la solution à analyser ou dans l'espace de tête. Après un temps suffisant il s'établit un équilibre de partage entre la phase solide constituée par la fibre et la phase gazeuse ou liquide<sup>130</sup>.

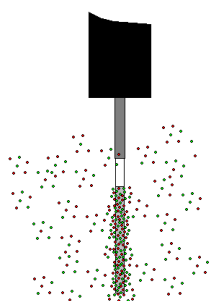


Figure 88 : Fibre MEPS en cours d'extraction

La micro-extraction sur phase solide de la bière *Immurtale* a conduit à l'obtention de 14 composés volatils, dont 12 ont été identifiés par la suite via CPG-DIF et CPG-SM. Les conditions et protocoles sont décrits dans la **Partie Expérimentale**. Les 12 composés ainsi identifiés sont présentés dans le Tableau 27.

Tableau 27 : Composés identifiés dans la bière Immortale après une MEPS

	Composé	Ira (litt)	IRp (litt)	Ira (exp)	% relatif
1	Acétate d'isopentyle	851	1087	906	4,2
2	Caproate d'éthyle	982	1206	987	4,7
3	Isobutyrate de 2-méthylbutyle	1004		1004	1,0
4	$\beta$ -phényléthanol	1086	1893	1087	6,9
5	Dihydrolinalol	1119		1121	1,7
6	Terpinèn-4-ol	1161	1600	1162	2,6
7	4,6-diméthyl-octan-3,5-dione	1161	1597	1165	1,2
8	$\alpha$ -terpinéol	1179	1700	1176	4,6
9	Octanoate d'éthyle	1180		1183	36,1
10	Acétate de phényléthyle	1230	1810	1229	2,8
11	Décanoate d'éthyle	1380		1383	25,5
12	2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol	1493	1884	1497	2,7

Les composés majoritaires, à savoir le  $\beta$ -phényléthanol, l'octanoate d'éthyle et le décanoate d'éthyle sont des sous-produits de la fermentation, avec l'acétate de phényléthyle<sup>131</sup>. L'isobutyrate de 2-méthylbutyle, le dihydrolinalol, le terpinèn-4-ol et l' $\alpha$ -terpinéol proviennent directement ou sont dérivés de constituants de l'huile essentielle du houblon. La 4,6-diméthyl-octan-3,5-dione est un composé volatil caractéristique de l'immortelle (*Helichrysum italicum*) entrant dans la composition de ce brassin<sup>132</sup>. L'acétate d'isopentyle et le caproate d'éthyle sont des composés du malt d'orge<sup>133</sup>.

La préconcentration des composés les plus volatils inhérente à la technique d'extraction employée conduit à une identification avancée du mélange par CPG-DIF / SM (94,0 %). Cependant, il convient de rappeler que la MEPS est une méthode sélective assez peu représentative des fractions volatiles de la bière dans leur entièreté. Par conséquent, le nombre de composés extraits ne permet pas une identification approfondie. La méthode n'est donc pas retenue pour la réalisation de ce travail.

## 2. Likens-Nickerson

L'appareil de Likens-Nickerson (Figure 89) permet l'extraction de composés organiques volatils (COV) d'une phase aqueuse (la bière dans notre cas) par entraînement à la vapeur. La bière, portée à ébullition dans un ballon, conduit à l'entraînement des COV dans un réfrigérant. En parallèle, un second ballon contenant un solvant organique non miscible à l'eau est chauffé. Les deux phases vapeur se mêlent dans le conduit. Les COV migrent vers la phase organique du fait de leur meilleure miscibilité avec ce type de solvants. La phase organique enrichie

progressivement en COV, plus lourde, reflue dans son ballon et est ensuite évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif.

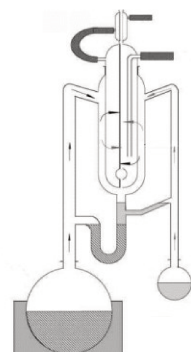


Figure 89 : Schéma d'un Likens-Nickerson

Les conditions et protocoles sont décrits dans la **Partie Expérimentale**. L'extraction de la bière *Immortale* par Likens-Nickerson a conduit à l'obtention de 65 composés très bien résolus en CPG-DIF et CPG-SM. Cependant, l'analyse du mélange n'a permis l'identification que d'acides linéaires et des esters dérivés, peu intéressants dans le contexte de notre étude. Il est à noter l'absence totale des composés volatils caractéristiques des huiles essentielles de houblon et d'immortelle. La présence de plusieurs dérivés pyraniques suggère que le traitement thermique du Likens-Nickerson n'est pas adapté au mélange étudié. Ces composés sont en effet des reliquats de la dégradation thermique des métabolites. Ce procédé d'extraction n'est donc pas retenu.

### 3. Extraction liquide/liquide au solvant

L'extraction liquide/liquide (ELL) au solvant est une méthode peu usitée dans les analyses des bières. L'ELL (Figure 90) est un procédé d'extraction basé sur le partage d'analytes entre deux phases liquides non miscibles. Les deux solvants utilisés permettent une séparation des composés en fonction de leur polarité par agitation/décantation. Les conditions et protocoles sont décrits dans la **Partie Expérimentale**.

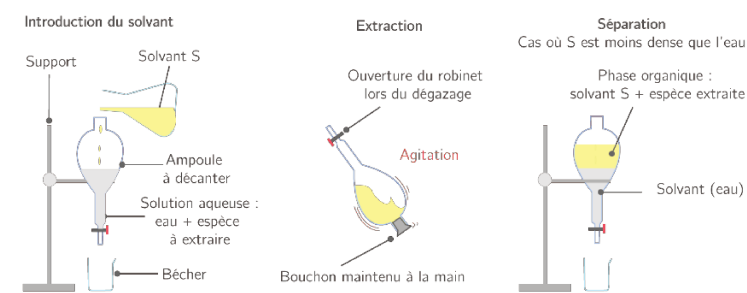


Figure 90 : Extraction liquide/liquide

L'ELL de la bière *Immortale* permet l'obtention d'un extrait dont l'analyse conduit à la détection de 198 composés. Cette méthode est de fait plus efficace que les deux autres. Néanmoins, l'analyse par CPG-SM et CPG-DIF ne permet d'identifier que 33 composés, soit un total de 60,44 % de l'extrait (Tableau 28).

Tableau 28 : Composés identifiés dans la bière *Immortale* après une ELL (1/2)

	Composé	IRa (litt)	IRp (litt)	IRa (exp)	% relatif
1	Acide hexanoïque	962	1813	981	0,16
2	2,4-diméthylheptan-3,5-dione	1068	1523	1070	0,79
3	Trans oxyde de linalol	1069	1435	1074	0,07
4	3,7-diméthylheptanol	1080		1080	0,2
5	Linalol	1081	1544	1088	1,53
6	$\beta$ -phényléthanol	1086	1893	1093	34,4
7	Terpinèn-4-ol	1161	1600	1162	1,42
8	4,6-diméthylheptan-3,5-dione	1161	1597	1167	0,81
9	Salicylate de méthyle	1173	1731	1172	0,17
10	$\alpha$ -terpinéol	1179	1700	1176	4,72
11	Octanoate d'éthyle	1175		1182	0,53
12	Nicotinate d'éthyle	1191		1186	0,18
13	Acide nonanoïque	1254		1224	1,11
14	Acétate de phényléthyle	1230	1810	1229	0,57
15	Carvacrol	1278	2219	1277	0,1
16	2,6,11-triméthylodécane	1279		1288	0,84
17	2-méthoxy-4-vinylphénol	1290	2163	1294	0,05
18	2,3,5,8-tétraméthylodécane	1318		1300	0,06
19	(Z)-(3,3-diméthylcyclohexylidène)acétate d'éthyle	1345		1345	0,09
20	7-méthyltridécane	1351	1728	1353	0,05
21	Acide décanoïque	1375	2258	1370	1,3
22	Décanoate d'éthyle	1380		1378	1,7
23	Tétradécane	1400		1403	0,34
24	4,6,9-triméthylodéc-8-èn-3,5-dione	1417	1882	1419	0,55
25	2,6,10-triméthylodécane	1463		1461	0,11
26	2,4,6,9-tétraméthylodéc-8-èn-3,5-diol	1464	1882	1465	0,12
27	Pentadécane	1500		1489	0,26
28	2,6-ditertbutyl-4-méthylphénol	1493	1884	1497	3,22
29	2,5-bis(diméthyl)phénol	1517		1519	0,26
30	Héxadécane	1600		1603	0,16
31	Ledol	1600	2029	1616	0,05
32	Tau-muurool	1634	2143	1645	0,05
33	Acide hexadécanoïque	1961	1975	1962	4,47

Les esters d'éthyle et le  $\beta$ -phényléthanol sont des sous-produits de la fermentation (36,8 % du mélange)<sup>131</sup>. Le *trans*-oxyde de linalol, le linalol, le terpinèn-4-ol, l' $\alpha$ -terpinéol, le carvacrol, le ledol, le tau-muurool ainsi que l'acide hexadécanoïque proviennent ou sont dérivés de composés présent dans l'huile essentielle du houblon (12,5 % du mélange)<sup>55-57,111</sup>. Les diones

et les diols proviennent de l'immortelle incorporée à la fin de l'ébullition (2,3 % du mélange)<sup>132</sup>. Le 2-méthoxy-4-vinylphénol est un composé du malt d'orge<sup>133</sup>.

La présence des diones de l'immortelle et des terpènes du houblon démontre que les méthodes d'extraction et d'analyse sont fonctionnelles. Pour la suite, il s'agira d'appliquer ces méthodes à plusieurs bières houblonnées à chaud durant la phase d'ébullition et houblonnées à cru (dryhopping) afin de déterminer l'impact du dryhopping sur l'aromatisation des bières.

## B. Amélioration des paramètres de brassage

### 1. Ébullition/DryHopping

Des échantillons de bière Cultra de la marque Ribella ont été analysés en triplicat afin de déterminer l'influence du dryhopping sur la composition chimique volatile de la bière. Un houblonnage à chaud (ébullition) et des houblonnages à froid (DryHopping) de différentes durées ont été réalisés, tel qu'indiqué dans le Tableau 29.

Tableau 29 : Description des échantillons de bière DryHopping/Ébullition

Code échantillon	Durée de l'houblonnage à froid (jours)
Cultra	0 - ébullition
Cultra DH1	5
Cultra DH2	21
Cultra DH3	32

Le protocole expérimental, développé en *Partie Expérimentale*, concernant la préparation des échantillons de bière a été appliqué à ces échantillons. L'émulsion des phases organique (diéthoxyde) et aqueuse (bière) a dû être brisée par centrifugation à 2000 rpm (-5°C) durant 20 mn avant de procéder à l'évaporation du solvant. Les extraits ont été injectés en CPG-DIF et CPG/SM. Une quantification vraie par la méthode Tissot des composés volatils d'intérêt a été menée en CPG-DIF suivant un protocole décrit dans la *Partie Expérimentale*.

La caractérisation chimique volatile obtenue par CPG-DIF et CPG/SM de ces quatre échantillons est donnée dans le Tableau 30. Chaque composé a été quantifié par la méthode Tissot en fonction de son facteur de réponse RRF.



Tableau 30 : Influence du DryHopping sur la composition chimique volatile des bières (ng/200mL)

No	Composés identifiés	Ir litt a <sup>a</sup>	Ir exp p <sup>b</sup>	Ir exp a <sup>c</sup>	RRF	Culta	Culta DH1	Culta DH2	Culta DH3
<b>Hydrocarbonés</b>									
1	Myrcène	981	1159	976	0,656436687				4,4
<b>Alcools</b>									
2	Hexan-2-ol	780	1232	771	0,801113576	0,56	10,9	29,7	56,8
3	Linalol	1081	1544	1084	0,745824978	0,27	3,5	3,6	5,3
4	β-Phényléthanol	1086	1893	1092	0,71900313	18,84	455,3	746,9	2198,1
5	α-Terpinéol	1179	1700	1187	0,745844319	0,08	63,1	8,9	4,4
6	Carvacrol	1278	2219	1274	0,694034389		1,6	1,6	7,6
7	2-Méthoxy-4-vinylphénol	1290	2163	1284	0,84056927		21,2	48,4	108,5
8	Tyrosol	1389	2970	1400	0,851316509	0,56	8,0	22,3	147,0
9	Zingibérénol 1	1599	2109	1593	0,703138362			0,8	5,1
<b>Cétones</b>									
10	Pulégone	1216	1645	1214	0,76144886	1,27	15,2	33,6	73,9
11	8-Hydroxymenthone	1226	1752	1224	0,85467304	0,14	0,23	3,7	41,9
12	8-Hydroxyisomenthone	1242	1819	1238	0,85467304	0,21	3,7	5,6	17,2
13	Pipériténone	1318		1311	0,761463866	2,93	31,0	77,4	145,9
<b>Aldéhydes</b>									
14	Nonanal	1083	1394	1081	0,746870521		2,2	4,9	21,3
<b>Esters</b>									
15	Acétate de phényléthyle	1230	1810	1226	0,813148879	3,65	6,8	6,9	6,9
16	Acétate de phényle	1240		1235	0,876136139	0,12	0,49	3,2	14,9
<b>Autres</b>									
17	Acide hexanoïque	962		977	1,027673812		1,3	1,4	40,4
18	(E)-Oxyde de linalol (THF)	1056	1460	1058	0,85464794		0,2	1,5	27,0
19	Époxyde d'humulène I	1593	2040	1593	0,712280576	0,10	1,3	2,8	7,9
20	Acide hexadécanoïque	1962		1961	0,741749846	0,19	16,8	17,4	24,3

*a* : indices de rétention sur colonne apolaire rapportés dans la littérature<sup>112</sup> ; *b* : indices de rétention expérimentaux sur colonne polaire ; *c* : indices de rétention expérimentaux sur colonne apolaire.

L'influence du DryHopping doit être observée par l'évolution des teneurs des huit composés volatils issus du houblon ( Tableau 1 ; Figure 91).

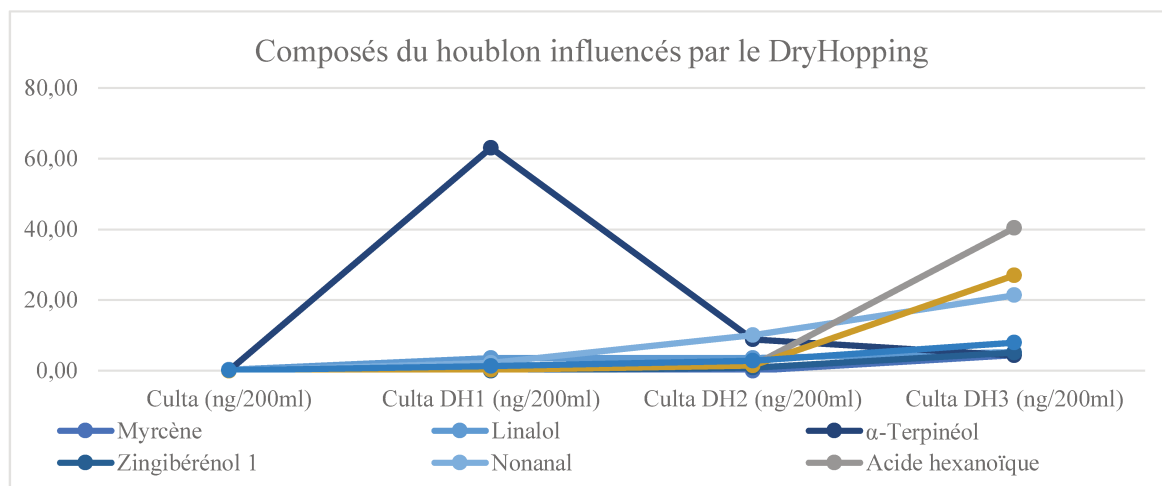


Figure 91 : Influence du DryHop sur les teneurs en composés volatils du houblon

La Figure 91 indique que l'houblonnage à froid extrait davantage de composés volatils d'intérêt que l'houblonnage conventionnel auparavant appliqué dans la brasserie Ribella. De plus, tous les composés volatils issus du houblon retrouvés dans la bière sont positivement influencés par un prolongement du DryHopping en dehors de l' $\alpha$ -terpinéol. Alors que les teneurs en  $\alpha$ -terpinéol décroissent dès le cinquième jour, celles des autres composés continuent d'augmenter jusqu'au trente-deuxième jour ; néanmoins, la littérature reporte l'apparition d'arômes « désagréables » et de fortes notes végétales et médicinales après trois semaines de Dry Hopping causées par l'extraction lente de polyphénols astringents et de l'augmentation des teneurs en myrcène<sup>134</sup>. Selon le profil aromatique recherché, le brasseur peut donc décider de la meilleure durée d'houblonnage à froid entre cinq et vingt-et-un jours. Cette étude de l'impact du DryHopping sur les fractions volatiles des bières pourrait être couplée à une analyse de ce même impact sur les fractions lourdes, car même à froid, les  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides ont tendance à s'infuser dans le moût au cours du temps et à en modifier l'amertume.

En plus d'être économique pour l'Entreprise et plus écologique, l'houblonnage à froid renforce l'aromaticité des bières, car il limite certainement l'évaporation des composés volatils lors de la phase d'ébullition.

## VII. Classification chimique des houblons de Corse

L'analyse chimique des houblons de Corse est d'une grande importance pour la détermination de son potentiel brassicole. En plus de ses intérêts académique et culturel, cette détermination est un tremplin économique considérable pour l'Entreprise, en premier lieu, mais également pour la Corse en permettant la pérennisation d'un nouveau marché rentable et durable, celui de la « filière houblon ». Au cours de ce chapitre, les fractions légères et lourdes du végétal insulaire ont été étudiées de manière approfondie afin de mettre en lumière sa typicité organoleptique et l'influence du terroir corse sur sa composition chimique complexe. Il n'existe pas un Houblon de Corse unique, en ce sens que chaque station de pousse et chaque condition pédoclimatique exercent une influence sur le profil de nos houblons.

En effet, les analyses des huiles essentielles des houblons de Corse spontanés ont montré une intense diversité quantitative. Cependant, leur point commun demeure leurs faibles teneurs en myrcène et leur abondance en  $\beta$ -sélinène et en zingibérène. Ce dernier composé, au profil épicé particulièrement recherché, de teneur élevée dans nos huiles essentielles, se trouve en bien moindre quantité dans la majorité des cultivars commerciaux. L'impact du terroir corse sur cette composition chimique a été démontré par l'étude des fractions légères de cultivars commerciaux transplantés et de houblons corses spontanés mis en culture dans une zone littorale de l'île.

La particularité des fractions lourdes des houblons de Corse a également fait l'objet d'analyses approfondies, cette fois par CL-SM/SM. Les caractéristiques de dix constituants majeurs du houblon ont été enregistrées dans notre base de données, puis les courbes de calibration afférentes ont été tracées pour les vingt-et-un composés à quantifier dans le but de déterminer leur coefficient de réponse en spectrométrie de masse. En sus des six  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides communément quantifiés dans le houblon, sept autres ont été identifiés grâce à une nouvelle méthodologie. Vingt-huit composés, au total, ont été quantifiés, puis soumis à une analyse statistique. L'influence des variations climatiques interannuelles sur la composition chimique des fractions lourdes a été mise en lumière ; les teneurs en  $\alpha$ -acides et en xanthohumol sont

fortement dépendantes du climat. Pour déterminer l'influence du sol littoral corse, des plants spontanés corses ont été mis en culture ainsi que des cultivars commerciaux ont été transplantés sur le littoral insulaire. La transplantation a été corrélée à une diminution immédiate du rendement d'extraction et des teneurs en  $\alpha$ -acides usuels qui pourrait s'expliquer par le haut stress engendré chez le végétal, mais une acclimatation rapide aux nouvelles conditions a été observée. La mise en culture des houblons corses a, quant à elle, conduit à une augmentation progressive des rendements d'extraction et des teneurs en polyphénols, coumarines,  $\alpha$ -acides non usuels et  $\beta$ -acides. Les analyses statistiques ont montré un fort impact de l'année de récolte (et des caractéristiques climatiques dépendantes) sur les teneurs en  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides ; un tel impact n'a, jusqu'à présent, encore jamais été exposé dans la littérature sur cette seconde famille de composés. Enfin, une analyse métabolomique des cônes de houblon, conduite par la méthode innovante des réseaux moléculaires, a permis l'identification de trente-quatre composés. Parmi eux, huit n'avaient jamais été décrits dans le houblon, dont un encore jamais décrit dans la littérature.

Les feuilles et les tiges du végétal, considérées généralement comme des déchets de brassage, ont également montré leur intérêt. L'analyse de leur composition par CPG-SM, puis par CL-SM/SM, a prouvé qu'une valorisation économique et organoleptique était envisageable dans le cadre d'une nouvelle filière agroalimentaire, notamment, par un renforcement des caractères aromatisants et amérisants des bières. Les houblons spontanés des stations de Corte et de Propriano diffèrent des autres par leur abondance en préhumulone, dont la famille moléculaire ( $\alpha$ -/ $\beta$ -acides non usuels) n'avait jamais été détectée dans les feuilles et les tiges auparavant.

Cette typicité des houblons spontanés de Corse a été corrélée aux paramètres pédoclimatiques particuliers de l'île, mais peut également dépendre de leur origine. La caractérisation génétique de la biodiversité des houblons de Corse n'avait jamais fait l'objet d'une étude avant le début du présent travail. Dans le cadre d'un partenariat avec l'Université de Parme, le profil génétique de quatre stations de houblons spontanés corses a été étudié. Les analyses statistiques de ces données ont montré un isolement de la station de Corte vis-à-vis des échantillons de Patrimonio

et d’Ajaccio, pouvant s’expliquer par des conditions pédoclimatiques très différentes. L’affinité des houblons de Corte et d’Oletta avec le cultivar Tettnanger (originaire d’Europe centrale) conduit à penser que ces accessions sont de même origine. L’affinité entre les houblons des stations de Patrimonio et d’Ajaccio et le cultivar Cascade conduit, quant à elle, à envisager la Grande-Bretagne comme berceau de ces accessions ; un rapprochement génétique au niveau de ces marqueurs SSR n’avait auparavant jamais été observé entre Cascade et des houblons méditerranéens. Une analyse génétique sur la totalité des stations serait nécessaire à la confirmation de ces observations.

En conclusion de ce chapitre, les particularités des accessions étudiées sont résumées dans le Tableau 31. Les pourcentages d’ $\alpha$ - et  $\beta$ -acides dans les cônes ont été calculés sur la base des moyennes des échantillons de chaque station, indépendamment de l’année de récolte. Bien que faibles en comparaison aux cultivars communément utilisés en brasserie, il faut garder présent à l’esprit que ces teneurs se rapportent à des houblons spontanés et qu’il a été mis en évidence que la mise en culture pouvait conduire à leur forte augmentation ; sur cette base, les teneurs supérieures à 0,3% ont été considérées comme importantes. Cette étude devait être complétée par une analyse sensorielle de chaque accession, mais les obligations sanitaires liées à la crise de la COVID-19 ne l’ont pas permis.

*Tableau 31 : Classification organoleptique des houblons de Corse*

Station	Notes aromatiques	Potentiel aromatisant	% d’ $\alpha$ -/ $\beta$ -acides	Potentiel amérisant	Classification	Intérêt brassicole
Canale	Boisée/agrume	Moyen	0,02	Très faible	Aromatisant	+
Aleria-Corte 2	Épicée (gingembre)/boisée/verte	Important	Traces	Très faible	Aromatisant	++
Biguglia	Épicée (clou de girofle)/verte	Moyen	0,17	Faible	Aromatisant	+
Urbinu	Boisée/agrume	Moyen	0,03	Très faible	Aromatisant	+
Lucciana	Boisée/agrume	Moyen	0,14	Faible	Aromatisant	+
Venzolasca	Épicée (gingembre)/boisée	Important	0,27	Moyen	Dual/Aromatisant	++
Corte	Épicée (gingembre)/boisée	Important	0,39	Important	Dual	++
Oletta	Verte	Faible	0,16	Faible	Dual	--
Ajaccio	Épicée (clou de girofle)/verte	Moyen	0,27	Moyen	Dual	+
Porto-Pollo	Épicée (clou de girofle)/verte	Moyen	0,47	Important	Dual/Amérisant	+
Propriano	Épicée (clou de girofle)/verte	Moyen	0,50	Important	Dual/Amérisant	+
Sta-Maria Poggio	Verte	Faible	0,32	Important	Amérisant	+
Aleria-Corte 1	Verte	Faible	0,25	Moyen	Amérisant	-

# CHAPITRE 5

## Nouveau chapitre de thèse (NCT)

### Valorisation socio-économique du Houblon de Corse

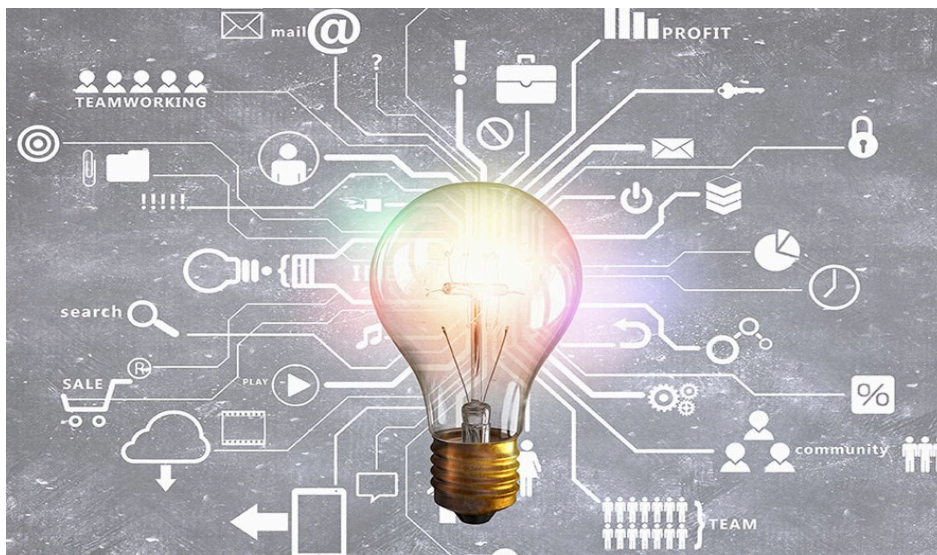


Figure 92 : Représentation de l'Intelligence économique

Cette partie du présent mémoire de Thèse correspond dans une large mesure à un travail développé, en 2020, dans le cadre du *Diplôme Universitaire d'Intelligence Économique* (DUIE) à moi délivré par l'université de Corse et préparé en partenariat avec l'*Académie de l'Intelligence Économique* (AIE, Président Alain Juillet) et de l'*Association Internationale Francophone d'Intelligence Économique* (AIFIE, Président Philippe Clerc).

Cette partie est basée sur mes travaux doctoraux de 1<sup>ère</sup> année effectués pour leur majeure partie au sein de l'Entreprise *Ribella* (Thèse sous CIFRE, Tuteur professionnel Pierre-François Maestracci). L'intitulé du mémoire de stage, préparé sous la direction de PrEM Henri Dou, était : « Le futur économique de la bière et du monde brassicole en Corse – *transition vers le 100 % local* ».

Enfin, cette partie se rapproche du « *Nouveau Chapitre de Thèse* » (NCT) prôné par l'*Association Bernard Gregory* (ABG) et c'est dans ce sens qu'il faut considérer la réflexion qui y est développée.

## I. Introduction

« L'Intelligence économique est une méthode de raisonnement qui se décline dans toutes les activités et qui rend l'Entreprise plus performante, plus compétitive et mieux sécurisée. Il s'agit d'admettre que les entreprises concurrentes peuvent être dirigées par des personnes meilleures que nous, et, ainsi, faire en sorte de s'améliorer soi-même. Connaître ses propres faiblesses et les forces des autres. Maîtriser et aussi protéger l'information utile pour les décisionnaires économiques. » - *Dixit Pr. Henri Dou* -.

Ce mémoire présente une approche de l'Intelligence Économique appliquée à la problématique de la transition du monde brassicole vers une production 100% locale. Au travers d'une analyse de la sphère agroalimentaire, il s'agira d'exprimer l'évolution de la Brasserie en France (et plus particulièrement en Corse) depuis sa création jusqu'à aujourd'hui, puis d'envisager son devenir dans un futur proche. Ce mémoire a été rédigé en tant que chapitre de ma thèse de doctorat. Il aborde, ainsi, une approche académique du sujet.

L'agroalimentaire français est en pleine modulation depuis quelques décennies. Les habitudes de consommation ont changé avec l'émergence de la « conscience écologique ». Dans cette optique, le monde brassicole s'est vu complètement modifié. Les préférences organoleptiques et les exigences qualitatives ne sont plus les mêmes. Désormais, il ne convient plus simplement de produire une bière au goût agréable, mais également de respecter le Consommateur, le Produit et l'Environnement. Pour répondre à ces nouvelles exigences, les brasseries artisanales doivent innover et se rapprocher du Commerce de proximité.

La Bière est un produit complexe ; à l'instar du Vin, c'est un produit vivant. Bien que les recettes soient très proches, les moindres détails, comme la provenance des matières premières et le savoir-faire, peuvent conduire à un produit significativement différent. Ces caractéristiques de fabrication ont également été influencées par les nouvelles exigences inhérentes au XXI<sup>e</sup> siècle. Afin de mieux comprendre comment les dernières décennies ont changé la Bière en France, il convient de débiter l'analyse par une description explicite de la chaîne de production sur le territoire national, et plus particulièrement sur le territoire corse.

## II. L'histoire de la bière en Corse

### A. L'évolution de la recette

Le houblon n'a pas toujours fait partie intégrante de la recette de la bière qui a beaucoup évolué depuis sa création. Il y a plus de 13.000 ans, le gruau était utilisé comme source de sucres pour la fermentation spontanée de boissons alcoolisées<sup>135</sup>. Il y a 5.000 ans, on utilise progressivement l'orge jusqu'à un usage exclusif<sup>136</sup>. Au 10<sup>e</sup> siècle, la boisson se sépara en deux groupes : les ales britanniques uniquement constituées d'eau, d'orge et de levures, et les bières aromatisées. À cet effet d'aromatisation, jusqu'au 13<sup>e</sup> siècle, on utilisait du gruit<sup>137</sup>, un mélange d'herbes aromatiques. C'est à cette époque que la bière au houblon se répandit en Bohême, mais les premières traces écrites d'houblonnage des bières datent de 822 dans le nord de la France. La généralisation de l'utilisation du houblon s'est faite, alors, rapidement en raison de ses propriétés antiseptiques largement supérieures à celles du gruit.

Le houblon est utilisé dans la bière pour son potentiel aromatisant apporté par les terpènes de l'huile essentielle de ses cônes, d'une part et pour son potentiel amérisant par l'action de ses  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides, d'autre part. En Corse, *Humulus lupulus* pousse spontanément sur tout le territoire et aucune variété n'a été distinguée.

En 1516, la *Reinheitsgebot* (loi de pureté) fut adoptée en Bavière<sup>138</sup>. Aux termes de cette loi, la bière ne doit être composée que d'eau, de malt et de houblon. Les levures furent ajoutées à la liste après leur découverte par Louis Pasteur en 1857. Aujourd'hui, la *Reinheitsgebot* est devenue une marque de pureté pour les bières, surtout en Allemagne, mais elle n'est plus une règle absolue. Désormais, pour être qualifiée de « Bière », la boisson doit être composée d'eau, de malt de céréales, de houblon et de levures, mais elle peut être aromatisée de différentes façons.

Aujourd'hui, la fabrication d'une bière requiert une succession d'étapes nécessitant une grande précision. La séquence classique de fabrication est donnée à la Figure 93. Chaque brasseur développe ses propres recettes. La moindre variation pourra conduire à l'obtention d'une bière totalement différente.



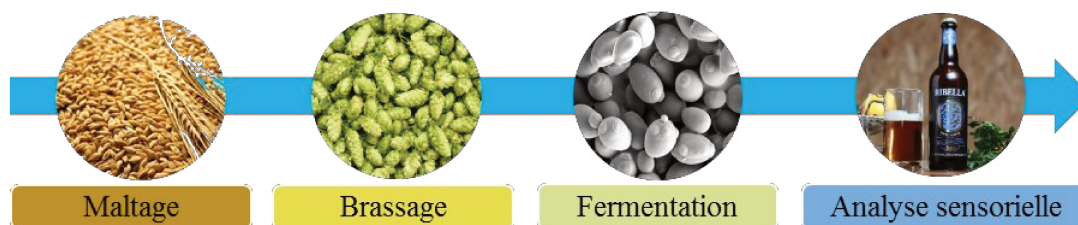


Figure 93 : Chaîne de production de la bière

Les grains d'orge subissent une germination forcée qui leur permet de produire des enzymes indispensables à la fermentation. Ces grains sont ensuite séchés, soit naturellement, soit par chauffage. Il est intéressant de noter que plus le malt est sombre, plus la bière sera foncée ; le niveau de cuisson du malt est le premier critère de différenciation entre les blondes, les ambrées et les brunes. Les bières blanches, quant à elles, sont en partie composées de blé. Par la suite, il s'agit d'incorporer le mélange de malts concassés dans l'eau de brassage à une température et à un pH précis afin d'en extraire les enzymes et les sucres. L'extraction d'enzymes est cruciale. En effet, les sucres contenus dans l'orge sont trop complexes (ex : amidon) pour que les levures puissent les consommer. Les enzymes ont pour rôle de lyser ces longues chaînes de sucres en plus petites entités fermentescibles (exemple : maltose). Il faut ensuite houblonner la bière afin d'y apporter son amertume ( $\alpha$ - et  $\beta$ -acides) et une partie de ses arômes (terpènes de l'huile essentielle de cônes de houblon). La dernière étape est celle de la fermentation, durant laquelle les levures (*Saccharomyces cerevisiae* dans la majorité des cas) consomment les sucres et sécrètent de l'anhydride carbonique et de l'éthanol.

## B. La bière en France continentale et en Corse

À partir du 14<sup>e</sup> siècle, tous les pays européens consommateurs de bière importèrent des cônes de houblon depuis la Bavière et la Bohême. En 1805, une grande pénurie obligea un brasseur alsacien, François-Ignace Derendinger, à mettre en culture, près de la ville d'Haguenau, son propre houblon en plantant des rhizomes venant de République Tchèque. Quelques années plus tard, lorsque les plants se furent adaptés au terroir, tous les brasseurs alsaciens décidèrent de limiter leur production aux brassins aromatisés par des houblons haguenviens. Ainsi débuta la bière française. Lorsqu'en 1860, une crise économique affecta drastiquement la culture du chanvre et du colza, celle du houblon français décolla et se répandit sur toute la moitié nord de

l'hexagone. À Haguenau, berceau du houblon français, les terres cultivées passèrent de 75 ha en 1837 à plus de 514 ha en 1866. La production nationale en cônes était alors suffisante pour couvrir les besoins de toutes les brasseries alsaciennes (plus gros producteurs) et d'une grande partie des brasseries du pays.<sup>34</sup>

La Halle aux houblons ouvrit en 1867 et fit de Haguenau (Figure 94) le centre économique mondial du houblon et de la bière. À cette époque, un très grand nombre de familles nobles européennes plantèrent le houblon hagenovien sur leurs propres terres, notamment à Modène, en Italie. Même si aucune trace écrite ne subsiste, tout porte à croire que l'arrivée du houblon en Corse date de cette époque et aurait donc cette même origine. À la fin de la guerre franco-prussienne, l'Alsace devint allemande et la production de houblon en France chuta drastiquement. En 1918, lorsque la France récupéra cette région, sa production en houblon avait été divisée de moitié. Le brassage de la bière devint cher et peu avantageux. Le vin fit son grand retour, surtout dans le pourtour méditerranéen où la fabrication et la consommation de bière disparut pratiquement.<sup>139</sup>



Figure 94 : Cueillette de houblon en Alsace (gravure sur bois, 1866)

Il n'existe que peu de traces de l'Histoire de la bière en Corse. Il est certain que la consommation de bière est apparue en Méditerranée durant l'Antiquité. Aussi, nous sommes conduits à penser que c'est également de cette période que date la première consommation de la bière en Corse. Cependant, tout pousse à croire que cette boisson n'y a jamais connu un réel succès. Sous l'empire romain, la bière a été totalement remplacée par le vin. En effet, le premier breuvage était la boisson des pauvres et finit par disparaître, tandis que le second, considéré

comme la boisson des dieux, devint omniprésent. Les dernières preuves de l'existence de bière sur l'île s'arrêtent là.<sup>140</sup> Plus d'un millénaire plus tard, avec l'invention de la « machine à froid artificiel » (Figure 95), la bière qui s'était cantonnée aux régions nordiques est finalement exportée jusqu'aux pourtours méditerranéens. Même si la fabrication ne reprend pas dans le sud, la consommation connaît un faible renouveau. C'est sans doute à cette période que la bière fait son grand retour en Corse.<sup>141</sup>



*Figure 95 : Machine à froid artificiel de Linde*

Aucune brasserie n'apparaît en Corse jusqu'en 1992, car l'influence du vin et de ses cépages endémiques y est trop prédominante. Tandis que la bière s'offre un succès mondial et se développe grandement aux Etats-Unis, les habitudes alimentaires se diversifient. La consommation de bière sur le pourtour méditerranéen atteint des sommets historiques. Entraînée par ce nouveau marché inexploité, la première brasserie de Corse ouvre ses portes. La Pietra (Figure 96) est alors seule sur le marché. Le succès est rapide, surtout avec l'émergence du tourisme de masse. Sept années plus tard, A Tribbiera (Figure 96) fait le choix risqué d'ouvrir une brasserie artisanale sur l'île.



*Figure 96 : Premières brasseries industrielle et artisanale de Corse*

Par la suite, plusieurs brasseries s'installent sur tout le territoire insulaire. L'intérêt brassicole connaît un nouvel essor et se démocratise. Le houblon alsacien revient en force, mais les houblons nord-américains, allemands et tchèques sont toujours majoritaires. Les brasseries se multiplient, en France continentale comme en Corse. Aujourd'hui, on dénombre plus d'une quinzaine de brasseries et micro-brasseries sur le territoire insulaire.

### C. Influence du houblon dans la bière

Aujourd'hui, le houblon est un ingrédient indispensable à la confection de la bière. Jusqu'au début du siècle dernier, les cultivars de houblon européens étaient connus pour leur potentiel « aromatisant » important, contrairement aux américains qui possédaient surtout un grand potentiel « amérisant ». Le houblon anglais n'était à l'époque composé que de 4 % d' $\alpha$ -acides en moyenne. Dans le but de créer des cultivars aux profils plus complexes, des chercheurs ont hybridé des houblons anglais et des houblons américains<sup>142</sup>. En 1917, Pr Ernest Salmon du Wye College of England a importé un houblon spontané Manitoban du Canada. L'année suivant son implantation, il l'a hybridé avec un pied de Fuggle cultivé (anglais). Les graines ainsi obtenues ont été semées et ont donné le tout premier cultivar anglais à haute teneur en  $\alpha$ -acides, Brewer's Gold (8-10 % d' $\alpha$ -acides).

Le houblon n'influe pas uniquement sur la saveur et l'arôme de la bière. En réalité, il joue sur sept paramètres<sup>75,143</sup> :

- L'amertume, donnée par ses  $\alpha$ - et  $\beta$ -acides.
- L'arôme, via les composés de son huile essentielle et ses polyphénols.
- La flaveur, par l'association cérébrale de la rétro-olfaction et du goût.
- La sensation en bouche.
- La tenue de mousse, à moindre mesure.
- La stabilité de l'arôme dans le temps.
- La conservation de la bière, grâce à ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

#### 1. La flaveur

Décrire un sens avec des mots n'est jamais aisé. L'odorat est sans doute notre sens le plus développé. Dans le livre « For the Love of Hops »<sup>144</sup>, Stan Hieronymus dit que « près d'un pourcent des gènes humains est dédié à l'olfaction. [...] Dans notre corps, la seule chose

comparable en termes de complexité est le système immunitaire ». Lorsqu'on aborde le sujet des arômes, il est primordial de s'intéresser à l'odorat, car il est à l'origine d'au moins deux tiers du plaisir gustatif<sup>145</sup>. En analysant l'ADN humain, Linda Buck et Richard Axel (tous deux Prix Nobel de médecine en 2004) ont découvert que de nombreux gènes dédiés à l'odorat demeurent inactifs. Sur le millier de récepteurs olfactifs que renferment les voies nasales, seulement 350 sont utilisés ; la partition est propre à chacun, ce qui explique les différences de perception olfactive entre deux individus<sup>88</sup>. À titre d'exemple, Tom Nielsen (de la Sierra Nevada Brewing) affirme qu' « un tiers de la population est totalement insensible à la  $\beta$ -ionone (Figure 97) (un composé abondant dans les houblons Saaz et présentant une note florale), tandis qu'un autre tiers en est extrêmement sensible ».

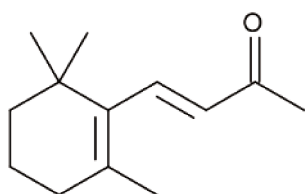


Figure 97 : Structure chimique de la  $\beta$ -ionone

De tels phénomènes d'anosmie particulière se retrouvent chez tout individu. De plus, Linda Buck et Richard Axel ont prouvé que l'odorat est un sens qui se travaille. En moyenne, un humain non entraîné peut différencier entre 10 000 et 40 000 odeurs, tandis qu'un sommelier ou un parfumeur peut en différencier plus de 100 000.

En opposition à cette extrême complexité olfactive, il n'existe que cinq saveurs primaires détectées par le sens « goût » : le sucré, le salé, l'acide, l'amer et l'umami. Le goût et l'odorat sont donc très différents, pourtant ils sont extrêmement liés. En 1980, Dr Paul Rozin a prouvé qu'il existait des différences entre les perceptions d'odeurs orthonasales (inspiration) et rétronasales (expiration), comme l'illustre la Figure 98.

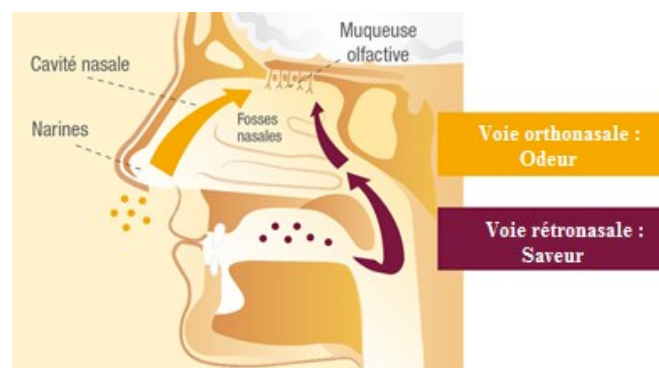


Figure 98 : Schéma des voies olfactives

La perception orthonasale est innée et commune à de nombreux animaux. Elle permet de détecter une odeur en toute objectivité. La perception rétronasale, en revanche, est unique aux humains et elle s'éduque<sup>146</sup>. C'est elle qui permet au cerveau l'association atypique d'un goût (ou saveur) et d'une odeur, créant ainsi ce que l'on appelle une « flaveur ». La flaveur est subjective. Elle est perçue différemment chez les individus, car elle est liée à la mémoire<sup>87</sup>. Dans certains cas, le souvenir d'une ancienne flaveur peut même conduire un individu à percevoir un goût primaire qui n'est pas présent. Ce fut le cas lors d'une expérimentation au Rock Bottom Breweries où des individus ont dû juger deux bières : une à l'odeur de houblon effacée, l'autre à l'odeur de houblon marquée. Malgré les mêmes unités d'amertume (Bitterness Unit), les testeurs ont perçu la bière à l'odeur houblonnée comme étant beaucoup plus amère, car leur cerveau avait auparavant lié l'odeur de ce végétal à sa forte amertume habituelle : c'est la flaveur du houblon<sup>144</sup>.

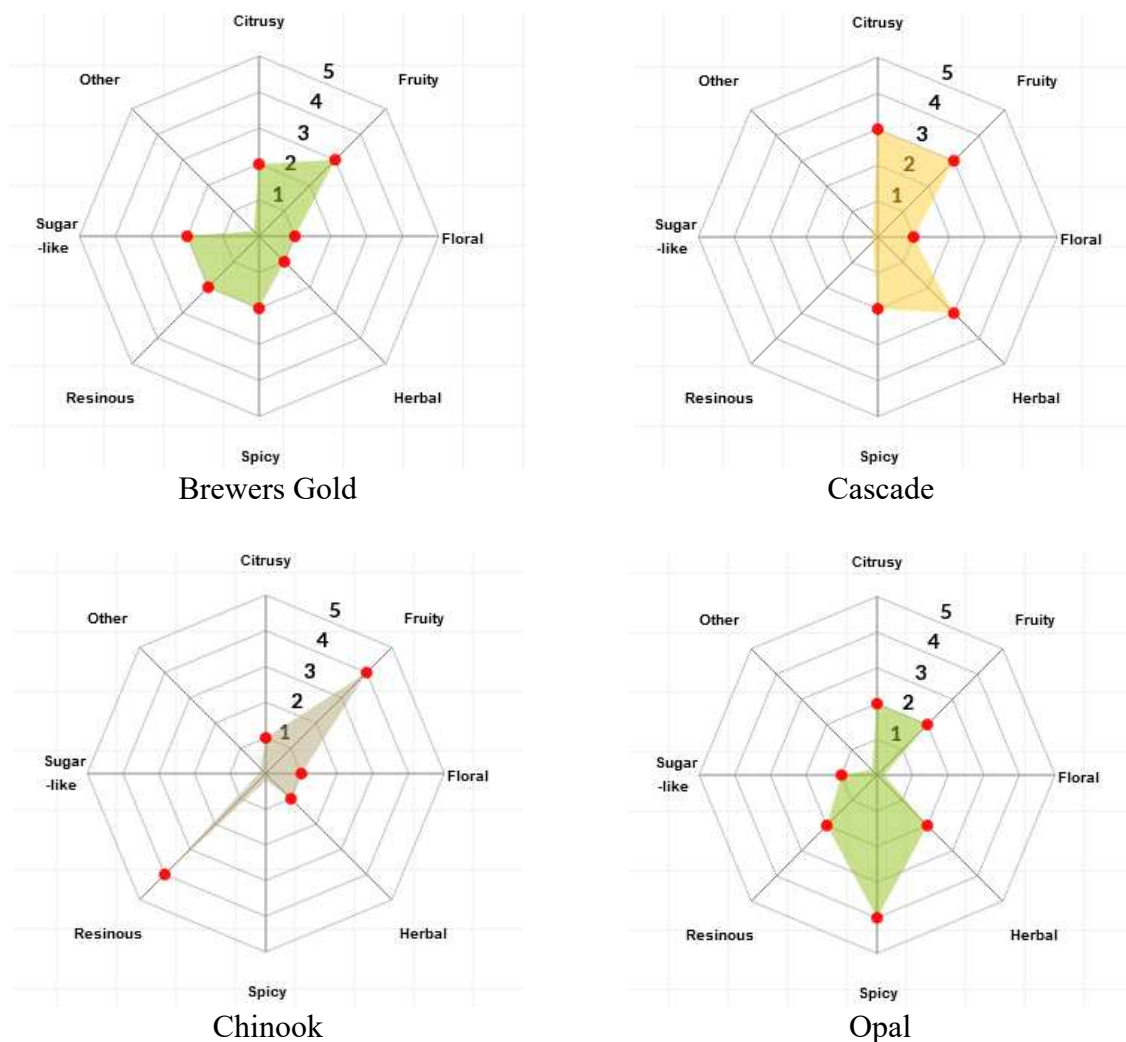
## 2. Description organoleptique du houblon

Le terme de flaveur étant explicité, il est désormais possible de réaliser une description organoleptique du houblon. Les composés jouant un rôle dans l'aromatization du houblon se retrouvent principalement dans l'huile essentielle, mais également dans des fractions plus lourdes du végétal. Sans les détailler pour le moment, il faut mettre en lumière leur impact important sur le produit fini que sera la bière. Afin de caractériser l'arôme du houblon, le monde brassicole s'est entendu sur sept grandes catégories olfactives. Précisons qu'un cultivar n'appartient jamais à une seule catégorie. Ces catégories sont les suivantes :



- Les notes d'agrumes (citrusy) forment la première catégorie organoleptique du houblon. Elles regroupent tout le spectre olfactif des agrumes (*Hesperidiae*). Elles sont légèrement acidulées et très légères.
- Les notes fruitées (fruity) sont douces et parfois exotiques. Les houblons dits fruités sont souvent utilisés dans les IPA et apportent des arômes de mangue et de papaye.
- Les notes florales (floral) sont fraîches et très présentes.
- Les notes vertes (herbal) se retrouvent très souvent dans les houblons. Elles rappellent l'odeur de l'herbe coupée, voire d'un sous-bois.
- Les notes épicées (spicy) sont piquantes et puissantes.
- Les notes boisées (resinous) sont chaudes et sèches, comme le pin.
- Les notes sucrées (sugar-like) sont rondes et lourdes. Elles sont rarement majoritaires dans le houblon.

Afin de caractériser au mieux l'impact olfactif des différents cultivars, des roues des arômes ont été créées. Elles quantifient la présence des sept catégories olfactives sur une échelle de 0 à 5. Les roues des cultivars étudiés durant ce travail sont présentées dans la Figure 99.



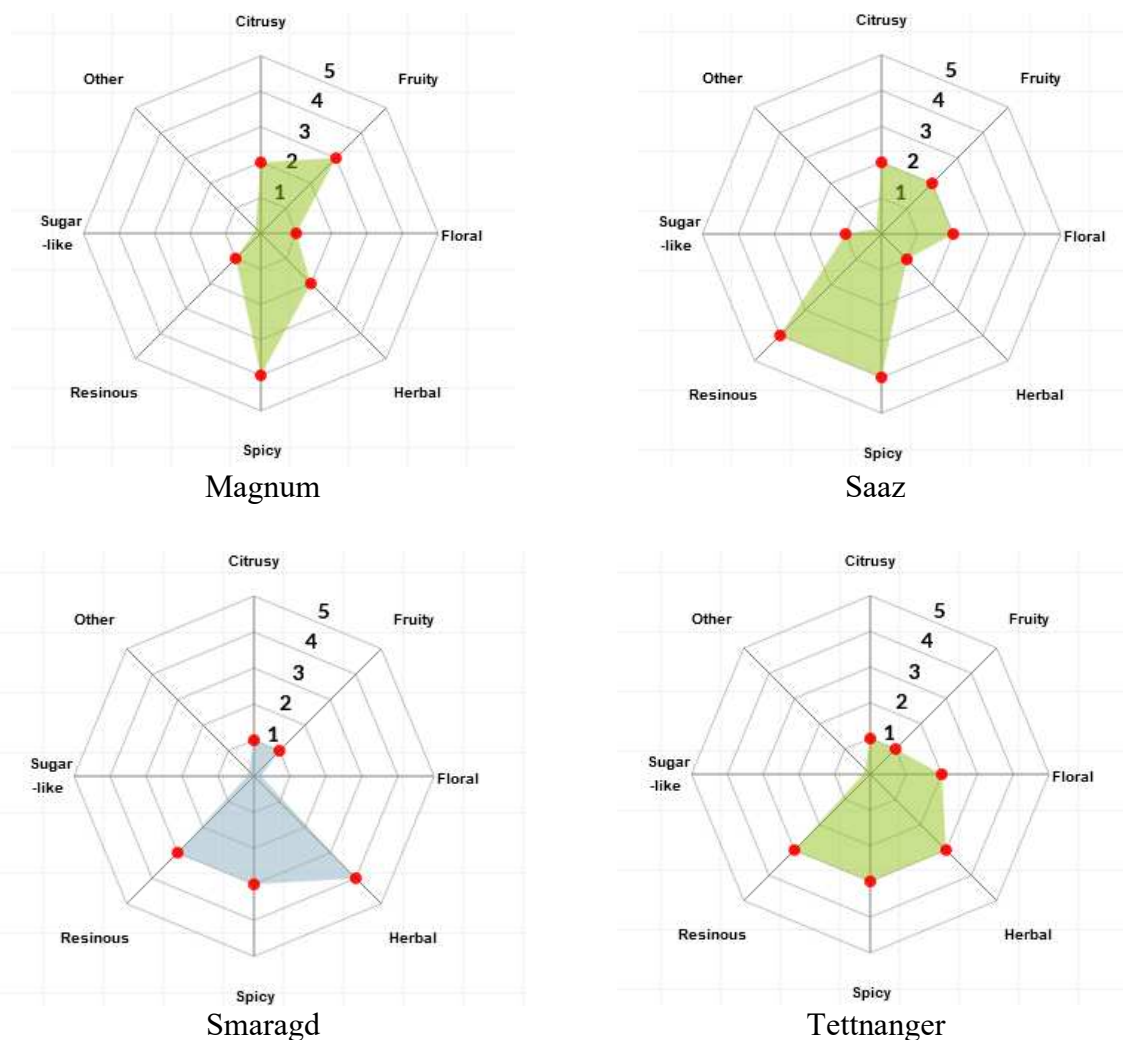


Figure 99 : Roues des arômes des cultivars étudiés

Une autre manière de déterminer le pouvoir aromatique d'un houblon est de quantifier son AU (*Aroma Unit*). L'AU a été créé par Nickerson et Van Engel<sup>51</sup>. Parmi les plus de deux-cent-cinquante composés identifiés dans l'huile essentielle du houblon, vingt-deux jouent assurément un rôle dans l'arôme du houblon et constituent le HACP (*Hops Aroma Component Profile*). Nickerson et Van Engel ont séparé ces vingt-deux composés en trois groupes (Tableau 32) : les produits d'oxydation de l'humulène et du caryophyllène (*oxidation products*), les composés estérifiés floraux (*floral-estery*) et les composés « agrume-pin » (*citrus-piney*).

Tableau 32 : Les 22 composés de l'HACP

Oxidation products	Floral-estery	Citrus-piney
Caryolanol	Géraniol	$\delta$ -cadinène
Oxyde de caryophyllène	Acétate de géranyle	$\gamma$ -cadinène



Diépoxyde A d'humulène	Isobutyrate de géranyle	Citral
Diépoxyde B d'humulène	Linalol	Limonène
Diépoxyde C d'humulène		Limonénol
Époxyde I d'humulène		$\alpha$ -Muuroène
Époxyde II d'humulène		Nérol
Époxyde III d'humulène		$\beta$ -sélinène
Humulénol II		
Humulol		

La quantification de ces trois groupes donnerait le pouvoir aromatique d'un houblon. Cependant, les brasseurs estiment que le AU est incomplet, car il ignore l'impact des composés ne se retrouvant pas dans les huiles essentielles. De nombreux composés du houblon se perdent durant les différentes étapes du brassage, tandis que d'autres se retrouvent dans le produit final. À titre informatif, le Tableau 33 liste quelques-uns des composés du houblon des plus odorants que l'on retrouve dans la bière. Certains de ces composés ne constituent pas l'huile essentielle.

Tableau 33 : Exemple de composés odorants du houblon se retrouvant dans la bière<sup>144</sup>

Composés	Arôme
Acide isovalérique	Fromage
3-mercaptohexanol (3MH)	Cassis/Raisin
Acétate de 3-mercaptohexyle (3MHA)	Cassis/Raisin
4-méthyl-3-mercaptopentanol (3M4MP)	Raisin/Rhubarbe
4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one (4MMP)	Cassis
$\alpha$ -pinène	Pin
$\beta$ -pinène	Fleurs/Baies
$\beta$ -ionone	Pin/Épices
Caryophylla-3,8-diène-5- $\beta$ -ol	Cèdre
Caryophyllène	Bois
cis-3-hexenal	Vert
Citral	Citron
Citronellol	Citron
2-méthylbutyrate d'éthyle	Fruits
2-méthylpropanoate d'éthyle	Ananas
3-méthylbutanoate d'éthyle	Fruits
4-méthylpentanoate d'éthyle	Fruits
Eudesmol	Épices

Farnésène	Fleurs
Géranol	Fleurs
Humulène	Bois/Pin
Isobutyrate d'isobutyle	Fruits
Limonène	Orange
Linalol	Fleurs/Orange
Myrcène	Vert/Bois
Terpinéol	Bois

En outre, afin de caractériser la flaveur d'un aliment, il est nécessaire de s'intéresser à ses arômes, mais aussi à sa saveur. Même si d'autres saveurs primaires peuvent entrer en jeu, le goût par lequel un houblon est caractérisé est avant tout son amertume.

Afin de caractériser au mieux l'arôme final d'une bière, les brasseurs ont développé de nouvelles roues des arômes. La roue suivante (Figure 100) a été créée par l'équipe de recherche de l'Université de Hochschule Rheinmain.

Malgré une influence de tous les ingrédients, l'amertume de la bière est largement apportée par le houblon. Une méthode de quantification du pouvoir amérisant du houblon, appelée « *International Bitterness Unit* » ou IBU<sup>147</sup>, a été développée par des brasseurs puis s'est démocratisée. L'IBU représente la quantité d'iso-humulone (un dérivé thermique des  $\alpha$ -acides) présente dans le produit fini.

$$IBU = \frac{m \times \alpha \times 10 \times U}{V}$$

Où :

$m$  est la masse de cônes incorporée (g)

$\alpha$  est la teneur en  $\alpha$ -acides du cultivar utilisé (%)

$U$  est l'isomérisation des acides selon le temps de brassage et de la densité du moût

$V$  est le volume final du moût

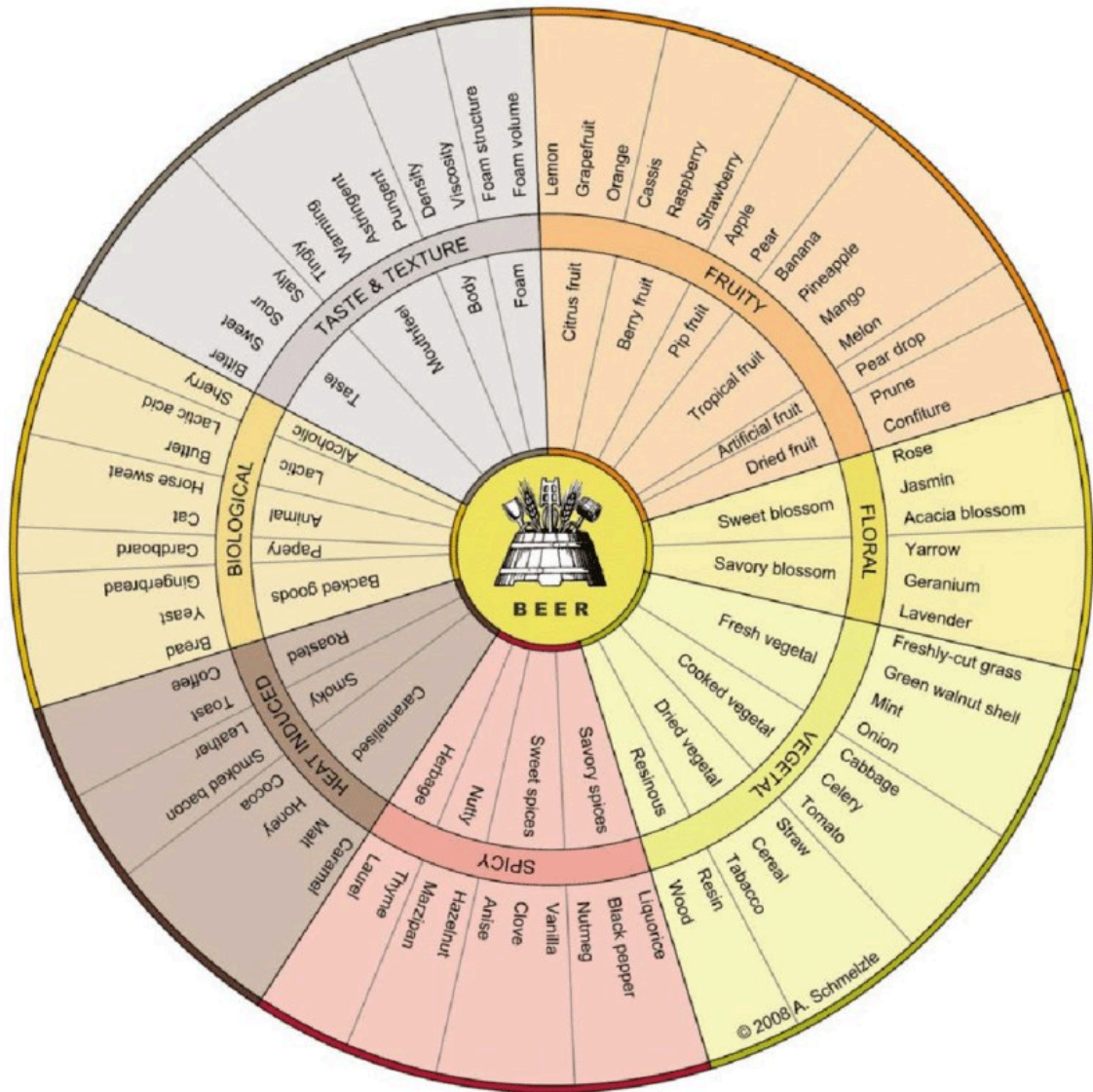


Figure 100 : Roue des arômes de la bière

Cette formule de l'IBU est une approximation, car elle ne prend pas en compte l'influence des  $\beta$ -acides sur l'amertume de la bière. À titre d'exemple, la figure suivante (Figure 101) donne l'IBU moyen des bières selon leur style.

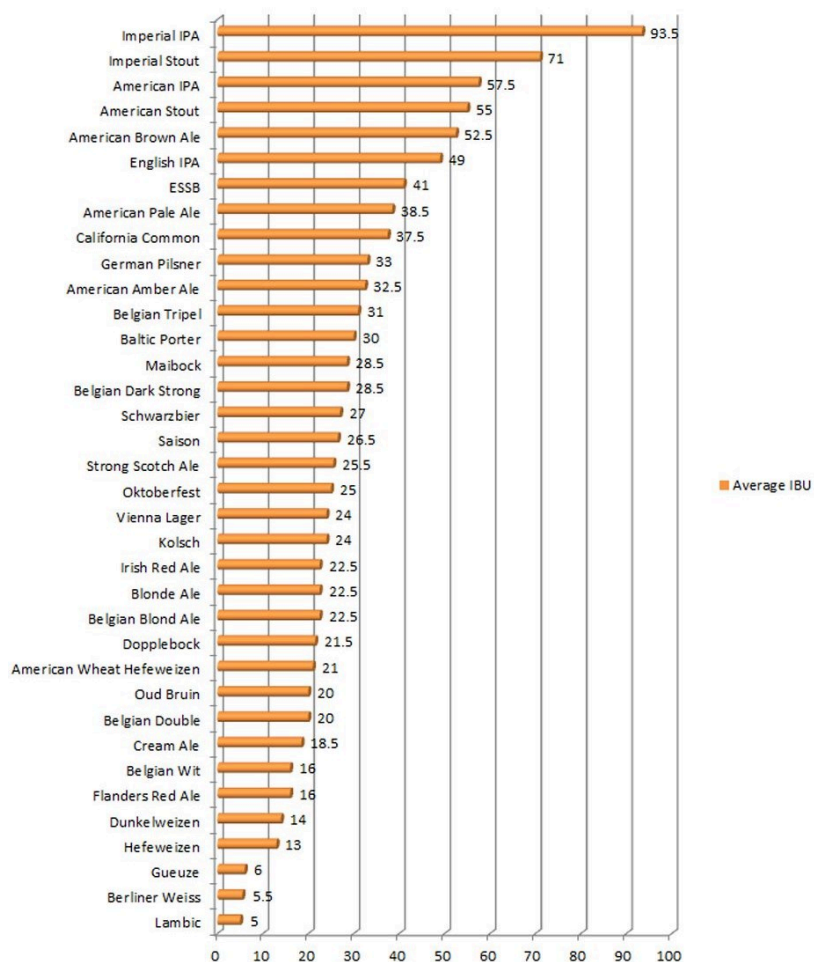


Figure 101 : IBU moyen par style de bière

L'amertume a toujours été partie intégrante de la bière actuelle. Les IPA (*India Pale Ale*), par exemple, sont extrêmement amères. Elles auraient été développées au XVIII<sup>e</sup> siècle pour approvisionner les troupes coloniales britanniques en Inde, la bière supportant mal la traversée. Les IPA, grâce à l'ajout de houblon aux propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, auraient été préservées<sup>148</sup>. Par la suite, beaucoup de consommateurs cherchaient des bières moins complexes et plus douces et les IPA sombrèrent dans la désuétude. Désormais, les tendances s'inversent. Les consommateurs s'intéressent de plus en plus à la complexité de la bière. Ainsi, ils recherchent des bières de plus en plus houblonnées<sup>149</sup>.

### III. Économie de l'agroalimentaire corse

#### A. L'agriculture

Jusqu'à la fin du XXe siècle, l'économie de la Corse était principalement tournée vers l'agriculture. Avec l'appauvrissement du territoire, l'agriculture a laissé sa première place à l'industrie du tourisme. Aujourd'hui, l'économie de l'agriculture corse est largement inférieure à celle des autres régions de France. Selon un rapport de l'INSEE datant de 2003, l'agriculture ne représentait que 2,3 % du PIB de Corse, contre 3,5 % de celui de la moyenne des autres régions de France (hors Île-de-France). Toujours selon ce rapport, le secteur de l'agriculture corse connaît une réduction drastique de -12,5 %. En 2017, l'agriculture ne représentait plus que 2 % de l'emploi en Corse, comme le montre la Figure 102.<sup>150</sup>



Figure 102 : Répartition en l'emploi en Corse selon les secteurs d'activité

Cette situation semble s'être stabilisée et présenterait, même, une légère inversion. La Figure 103 donne le nombre d'unités de travail annuel (UTA) par secteur agricole en 2016 ainsi que le rapport de ces activités entre 2010 et 2016 (l'UTA est l'unité de mesure de la quantité de travail humain fourni sur chaque exploitation agricole – Insee).

	Nombre d'UTA	2016 /2010 (1)
	2016	%
Total	4 320	+1,1%
Fruits et autres cultures permanentes	902	+2,5%
Viticulture	802	+1,4%
Ovins et caprins	722	+0,4%
Bovins viande	696	-0,4%
Polyculture, polyélevage	388	+1,6%
Autres herbivores	171	+0,9%
Porcins	160	+1,6%
Fleurs, horticulture diverse	135	+1,0%
Céréales et Oléoprotéagineux	19	+2,2%
Autres grandes cultures	174	+3,8%
Marachage	59	+0,9%
Volailles	60	-3,7%
Autres élevages hors sol	31	+0,4%

Figure 103 : Nombre d'UTA en 2016 par secteur agricole

Cette inversion pourrait s'expliquer par une évolution des modes de pensée et une prise de conscience du besoin agricole de l'île. De plus, la diminution des coûts des terrains labourables (Figure 104) pourrait accentuer cette reprise d'activité et pousser les jeunes agriculteurs à s'investir dans les années futures.



Figure 104 : Valeur vénale (€) des terrains agricoles en Corse

La plaine orientale et le nord de la Corse sont les zones les plus cultivées. Autrefois, la production céréalière y était importante, mais aujourd'hui, elle a pratiquement disparue (Figure 105) pour laisser place à la viticulture et à l'agrumiculture intensives. Le reste de l'île, très montagneux, est surtout orienté vers la culture d'oliviers et de châtaigniers, mais également vers l'élevage de parcours.



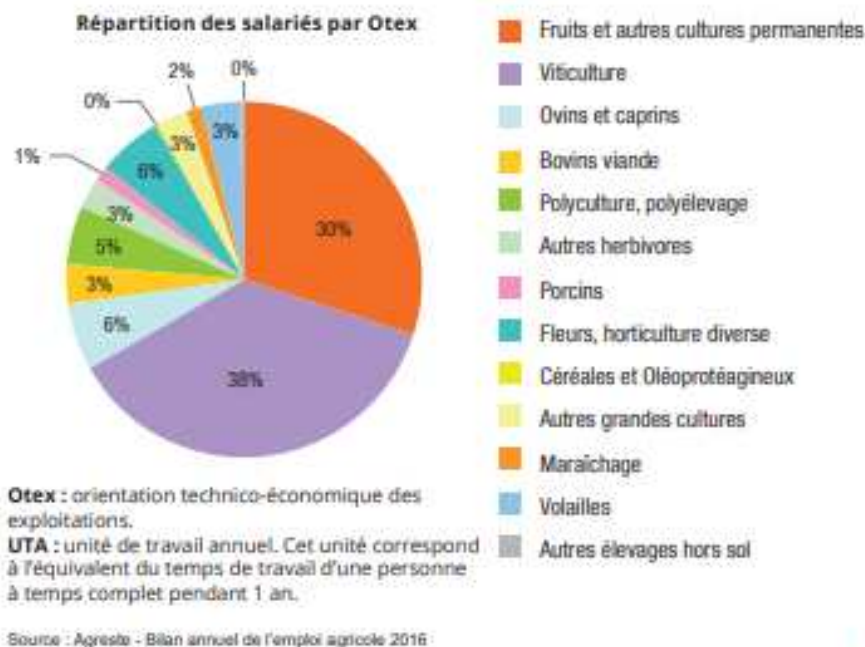


Figure 105 : Bilan annuel de l'emploi agricole en Corse en 2016

Pour protéger leurs produits et leur savoir-faire, les agriculteurs corses se sont longuement battus pour obtenir leurs nombreux labels (AOC, AOP, IGP), notamment pour leurs vins et leurs charcuteries reconnus dans toute l'Europe. L'AOP et l'AOC « Miel de Corse – Mele di Corsica » sont de bons exemples de la collaboration fructueuse de la Profession et de l'Université<sup>151,152</sup>. L'apparition de ces produits de qualité s'accélère chaque année, comme l'indique la Figure 106<sup>153</sup>.

SIQO	Appellation	Nb. producteurs	Surfaces récoltées (ha)	Production (t)	Production 2018/2017 en %
AOP	Brocciu corse / Brocciu	443		380	+21%
AOP	Coppa de Corse / Coppa de Corse - Coppa di Corsica	83		4	+277%
AOP	Jambon sec de Corse / Jambon sec de Corse - Prisuttu	72		10	-10%
AOP	Lanzu de Corse / Lanzu de Corse - Lanzu	83		4	+161%
AOP	Farine de châtaigne corse - Farina castagnina corsa	73	358	15	-55%
AOP	Huile d'olive de Corse / Huile d'olive de Corse - Oliu di Corsica	179	582	201	+93%
AOP	Miel de Corse - Mele di Corsica	127		210	+22%
IGP	Clémentine de Corse	183	1 485	30 023	13%
IGP	Noisette de Cervione - Nuciola di Cervioni	21	46	28	40%
IGP	Pomelo de Corse	46	150	2 987	-17%

SIQO : Signe d'identification de la qualité et de l'origine  
 Source : Institut National de l'Origine et de la Qualité – Organismes de défense et de gestion (ODG) - 2018

Figure 106 : Les signes de qualité en Corse, hors bio et vins, en 2018

## B. Les industries agroalimentaires

L'entreprise agroalimentaire considérée ici est une entreprise dont l'activité principale au sens de la NAF rév. 2 (2008) concerne les industries alimentaires et la fabrication de boissons. Un rapport du ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt de 2016 affirme que « le secteur de l'industrie agroalimentaire [...] porte l'image de la Corse à l'étranger et sur le continent. Il porte de multiples enjeux au croisement des politiques publiques pour le développement de l'agriculture et des territoires, de l'emploi et du tourisme. [...] Le développement de l'agroalimentaire est un enjeu stratégique majeur ». <sup>154</sup>

L'activité agroalimentaire est la première activité industrielle de Corse, cependant, elle demeure deux fois moins importante que celle au niveau national. En 2009, son chiffre d'affaires moyen sur l'île est de 650.000 € par entreprise, représentant ainsi 45% du chiffre d'affaires du secteur de l'industrie. Cette proportion est deux fois plus importante que celle au niveau national. Cependant, en raison d'un tissu industriel insulaire moins diversifié, l'activité agroalimentaire ne représente que 3% du chiffre d'affaires de l'économie globale régionale, soit un poids deux fois plus faible que dans l'ensemble des autres régions françaises. <sup>155</sup>

L'activité de boulangerie réunit plus de la moitié (56%) du secteur de l'industrie agroalimentaire (IAA). Le restant regroupe des activités très différentes : fabrication de boissons, transformation et conservation de la viande, fabrication de produits laitiers, charcuterie, etc. Ces activités représentent 2,3 % du chiffre d'affaires régional, soit trois fois moins que celui de la France continentale. <sup>150</sup>

En Corse, les entreprises du secteur industriel de l'agroalimentaire sont souvent de petites voire de microentreprises. Les entités réalisant plus 50 millions d'euros de chiffre d'affaires sont absentes de l'île. De ce fait, dans la Figure 107, on remarque que les entreprises corses du secteur IAA emploient beaucoup moins de salariés qu'au niveau national.



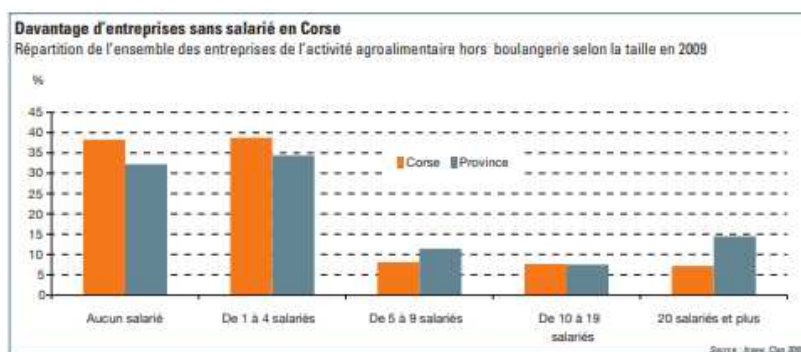


Figure 107 : Nombre de salariés dans les entreprises corses du secteur IAA

Alors que leur chiffre d'affaires est inférieur, les entreprises corses du secteur IAA sont plus rentables que celles du continent (Figure 108). Cette rentabilité d'exploitation se mesure à partir du taux de marge brute d'exploitation. Ce taux évalue dans quelle mesure une entreprise dégage un bénéfice, ou une perte, du fait de son activité de production. En 2009, il est de 8 % en Corse et de 5,9 % en France continentale (hors Ile de France). En Corse, le taux le plus le plus élevé est celui de de fabrication de boissons avec un pourcentage total de 10,6 %. Les différences les plus significatives concernent les activités de charcuterie et de fabrication de produits laitiers. L'activité agroalimentaire hors boulangerie crée davantage de valeur ajoutée que sur le continent. La part de la valeur ajoutée dans le chiffre d'affaires est de 25,5 % dans la région, soient 4 points par rapport au continent. La valeur ajoutée représente ce qui reste du chiffre d'affaires d'une entreprise après avoir réglé les consommations intermédiaires, c'est à dire les différents achats de biens et services consommés au cours de la production.

Indicateurs économiques de l'activité agroalimentaire hors boulangerie

	Corse		Province	
	Ensemble des entreprises	Entreprises de moins de 50 M d'euros de CA	Ensemble des entreprises	
Chiffre d'affaires moyen (milliers d'euros)	1 057,0	2 453,2	6 591,3	
Taux de valeur ajoutée (%)	25,5	21,5	18,1	
Taux de marge brute d'exploitation (%)	8,0	5,9	5,8	
Poids des frais de personnel (%)	68,8	72,5	67,9	
Taux de rendement apparent du travail (milliers d'euros)	61,7	54,1	62,2	
Taux de rendement apparent du capital (%)	37,8	41,1	39,1	
Taux d'endettement (%)	18,8	25,5	23,6	
Taux d'exportation (%)	1,7	10,8	18,0	

Source : INRAE, DADIS 2009

Figure 108 : Indicateurs économiques de l'activité agroalimentaire de Corse

Du fait des différences géographiques, on remarque des disparités entre les deux départements concernant le secteur des IAA. La Figure 109 illustre ces différences de répartition. La fabrication de boissons est le secteur le plus présent en Haute-Corse. Ceci peut s'expliquer par la présence de la plus grande partie des vignobles insulaires et des plus grandes brasseries.

Il est à noter une autre grande particularité du secteur des IAA en Corse. À l'instar de nombreux secteurs économiques insulaires, l'emploi salarié de l'activité agroalimentaire se distingue du niveau national (Figure 110) par une surreprésentation d'employés au détriment des professions intermédiaires et par des salaires en moyenne inférieurs de 10 %.

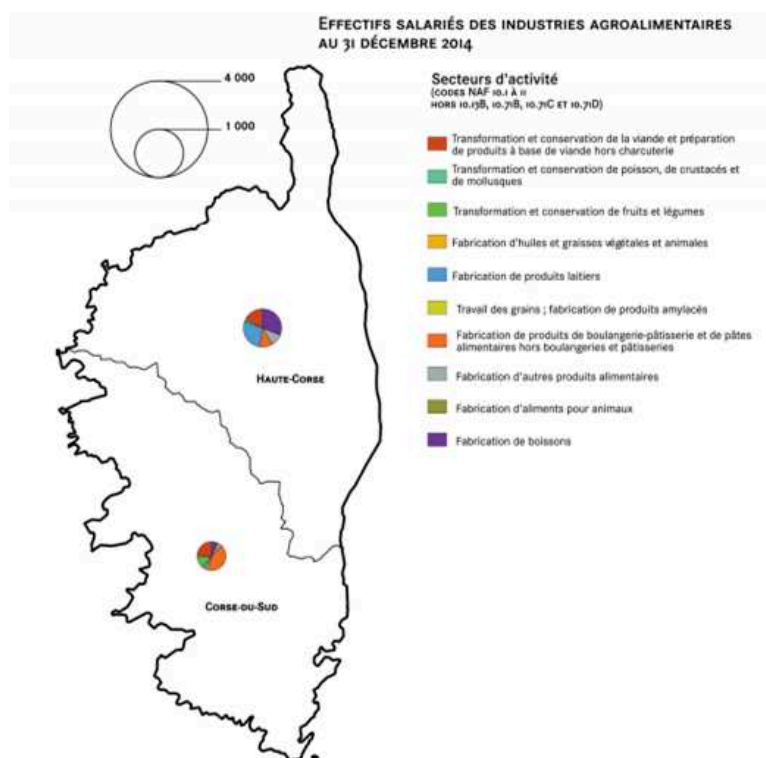


Figure 109 : Répartition des secteurs d'activité des IAA en Corse<sup>154</sup>

Le secteur de l'agroalimentaire est un enjeu économique d'autant plus important que l'économie insulaire repose en majorité sur un secteur du tourisme instable, car dépendant de phénomènes aléatoires (ex : conditions climatiques, pandémies, mouvements sociaux dans les transports...). Afin d'assurer une stabilité et une autonomie économique, il devient nécessaire de développer d'autres industries à fort potentiel, notamment le secteur de l'agroalimentaire.

Caractéristiques de l'emploi salarié du secteur IAA en 2009	Ensemble IAA		Boulangerie		IAA hors Boulangerie	
	Corse	Province	Corse	Province	Corse	Province
<b>Catégorie socioprofessionnelle (%)</b>						
Chef d'entreprises et Cadres	5,3	5,8	3,7	1,5	7,1	7,5
Professions intermédiaires	4,6	9,3	1,1	1,1	8,6	12,7
Employés	29,0	19,4	41,8	44,9	14,2	8,9
Ouvriers	61,1	65,5	53,4	52,4	70,1	70,9
<b>Part des hommes (%)</b>	<b>61,2</b>	<b>57,0</b>	<b>55,9</b>	<b>49,6</b>	<b>67,4</b>	<b>60,0</b>
<b>Age moyen (ans)</b>	<b>36,0</b>	<b>37,0</b>	<b>35,0</b>	<b>31,0</b>	<b>37,0</b>	<b>39,0</b>
<b>Part de temps complets (%)</b>	<b>81,5</b>	<b>84,3</b>	<b>77,0</b>	<b>74,1</b>	<b>86,7</b>	<b>88,5</b>
<b>Type de contrat (%)</b>						
CDI	68,3	74,2	67,1	61,1	69,9	80,3
CDD	26,6	16,7	25,9	16,0	27,5	17,0
Apprentissage	3,0	7,3	4,4	21,3	1,3	1,9
Autres (emplois aidés, stagiaires...)	2,1	1,7	2,6	1,7	1,3	0,8
<b>Salaire horaire brut moyen (euros)</b>	<b>12,8</b>	<b>14,3</b>	<b>11,2</b>	<b>9,7</b>	<b>14,4</b>	<b>15,8</b>

Source: Insee, DADS 2009

Figure 110 : Secteur IAA en Corse (2009)

### C. La bière en Corse

Cette partie du mémoire a été réalisée en croisant de nombreuses données apportées par la Chambre de Commerce de Haute-Corse<sup>156</sup> et/ou provenant des différentes brasseries citées ci-dessous.

Il a été exposé, précédemment, que l'histoire de la bière en Corse est très récente. Avant 1992, il n'existait aucune brasserie professionnelle sur le territoire. Aujourd'hui, on en dénombre plus d'une quinzaine. Afin de mettre en lumière la croissance économique des activités liées à la bière en Corse, cette partie sera consacrée à la description des brasseries insulaires et à l'influence de leurs marqueurs gustatifs territoriaux.

Implantée à Furiani depuis vingt-cinq ans, Pietra est à la fois la plus vieille et la plus grande brasserie professionnelle de Corse avec 18.120.500 € de chiffre d'affaires en 2015. Chaque année, cette brasserie industrielle augmente son influence sur le territoire européen. Longtemps seule sur le marché de la bière corse, Pietra doit désormais concurrencer de nombreuses brasseries artisanales préférant une approche qualitative. Pour ce faire, la brasserie se concentre sur une matière première insulaire, la châtaigne, ou encore, plus récemment, sur une problématique très actuelle avec sa bière sans gluten (Figure 111). Même si Pietra propose ses produits à des prix imbattables, les consommateurs, plus exigeants, se tournent de plus en plus vers les bières artisanales insulaires.



Figure 111 : Bière Pietra sans gluten

C'est le cas de « Tribbiera », la première brasserie artisanale de Corse. Créée il y a plus de vingt ans à Isolaccio-di-Fiurmorbo (Plaine orientale), Tribbiera possédait en 2006 un chiffre d'affaires de 128.000 €, soit une augmentation de 2,84% par rapport à l'année précédente. Proposant une bière au miel de Corse AOP, Tribbiera a su se faire une place importante dans le marché de la bière insulaire.

C'est aussi le cas de « Ribella », brasserie créée il y a quatorze ans et qui propose des bières riches et brassées à partir d'ingrédients corses exclusivement sous le label BIO. En 2018, elle possédait un chiffre d'affaires de 616.000 €, soit une augmentation de +75,71% par rapport à l'année précédente. Cet accroissement démontre l'intérêt grandissant des consommateurs pour un produit local privilégiant la qualité et respectueux de l'environnement. Ribella choisit de porter la richesse aromatique de l'île dans ses bières, notamment avec la *Madonna* au cédrat de Corse (*Citrus medica*), l'*Immurtale* à la fleur d'immortelle (*Helychrisum italicum*), la *Vampa* à la clémentine de Corse (*Citrus × clementina*), ou la *Culta* à la nepita (*Calamintha nepeta*) (Figure 112).

Par la suite, de nombreuses brasseries voient le jour. Parmi elles, certaines optent pour une approche artisanale et respectueuse du terroir, comme la brasserie du maquis, « Monte Kyrie Eleison » (Figure 113), la brasserie « impériale » ou « A Malacella. » D'autres privilégient le facteur quantitatif, comme « Kiara » (Figure 113), « Corsina » ou « Paolina ».



Figure 112 : Exemples de bières « Ribella » aux ingrédients de Corse



Figure 113 : Bières des brasseries Monte Kyrie Eleison et Kiara

Indépendamment de leurs moyens de production et de leurs problématiques, la majorité des brasseries de Corse utilisent des produits typiques du terroir. L'influence de telles matières premières est clairement définie et les impacts insulaires économique et culturel ne sont pas à négliger.

À ce jour, seules les brasseries « Pietra » et « Ribella » exportent leurs produits sur le continent. En effet, l'insularité de la Corse induit des tarifs de fret de marchandise très élevés et prohibitives pour les plus petites brasseries.



## IV. Le futur de la bière en Corse

### A. De l'Industrie à l'Artisanat

La notion d'artisanat est apparue après la première guerre mondiale, tandis qu'émergeait l'industrialisation<sup>157</sup>. Rapidement, les vieux métiers, rendus obsolètes par l'arrivée des machines et des usines à grand rendement, ont disparu. Avec la perte de nombreux postes, cette suppression a également engendré la perte des anciennes maîtrises jugées aujourd'hui qualitatives.<sup>158</sup> Une nouvelle révolution économique, dite « informationnelle » est engagée depuis le milieu du siècle dernier et qui tend, à son tour, à marginaliser le monde industriel.

Contrairement aux industries, les artisans ont une capacité de production relativement limitée ; ils doivent positionner leurs prix bien au-delà des tarifs industriels en raison des durées plus conséquentes de fabrication et du niveau d'expertise requis. Malgré ces tarifs élevés, l'artisanat agroalimentaire est beaucoup moins lucratif que l'industrie du même secteur, comme le montre la Figure 114. Cependant, dans ce secteur agroalimentaire on remarque un nombre d'entreprises artisanales bien supérieur à celui des entreprises industrielles.

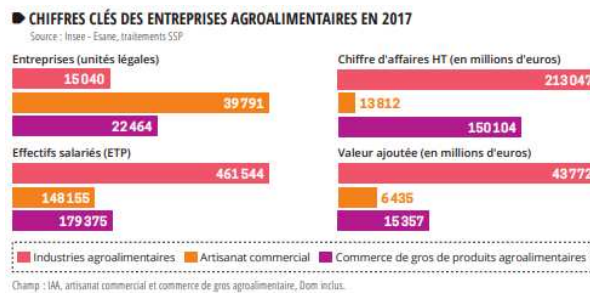


Figure 114 : Chiffres industrie/artisanat dans l'agroalimentaire

L'arrivée du machinisme n'est pas forcément en opposition au travail artisanal dans la mesure où le savoir-faire ainsi que le respect du produit, du terroir et de l'environnement sont préservés. C'est le cas notamment d'internet, qui est un outil tout aussi bien au service de l'industrialisation et que de l'artisanat. Aujourd'hui, le meilleur moyen de concurrencer les chaînes de productions industrielles est de sensibiliser le consommateur à la qualité du produit proposé. Pour ce faire, la communication doit passer par les réseaux sociaux. Internet facilite

les partenariats entre producteurs, artisans et consommateurs, ainsi que la veille concurrentielle. Le e-commerce alimentaire permet une meilleure gestion des stocks et un suivi facilité du client.

Face aux scandales alimentaires récents, les consommateurs ont développé une méfiance des produits industriels et se tournent désormais vers des produits traçables ; une composition transparente et un apport nutritionnel équilibré.

L'anticonformisme joue également un rôle bénéfique pour l'agroalimentaire artisanal, car il pousse les consommateurs à se tourner vers des produits authentiques ou au contraire atypiques, voire sur-mesure, qui ne peuvent en aucun cas être fabriqués à échelle industrielle. La durée conséquente de fabrication d'un produit artisanal n'est désormais plus dommageable pour le client qui privilégie la qualité à la rapidité. Cette qualité peut paraître sur les étiquettes des produits artisanaux à travers des labels exigeants qui rassurent le consommateur.

La Figure 115 démontre, entre autres, l'augmentation de l'intérêt national porté à l'agroalimentaire artisanal depuis 2011.

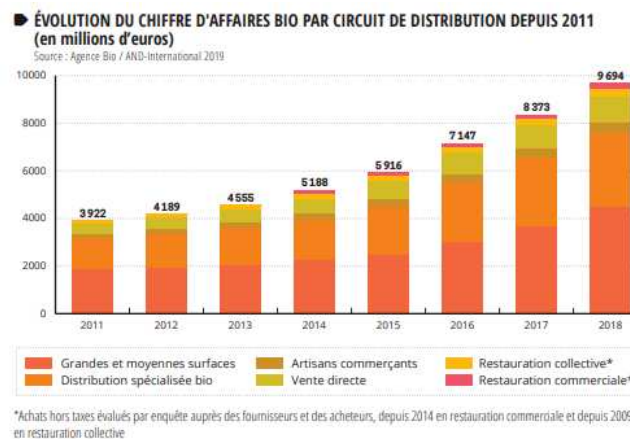


Figure 115 : Évolution du chiffre d'affaires par secteur d'activité

Pour le futur proche, on identifie huit tendances de consommation<sup>159</sup> :

- Le e-commerce
- L'individualisation/l'anticonformisme
- L'exigence de diminution du gaspillage
- La recherche d'authenticité
- Le besoin de transparence
- Le commerce de proximité
- La recherche de naturalité

- L'alimentation durable et respectueuse

Toutes ces nouvelles habitudes de consommations peuvent s'inscrire dans un mode de fabrication artisanal.

## B. Vers le Respect des Consommateurs et de l'Environnement

Les exigences des consommateurs dans le domaine de l'agroalimentaire ont évolué. Désormais, ils ont pris conscience qu'il existe un lien entre ce qu'ils consomment et leur santé. Cette prise de conscience très récente mène les producteurs à s'adapter et à proposer des produits sains, à la composition transparente et dépourvue de toute ambiguïté. Les labels de qualité évoqués supra répondent à cette demande et sont parfois très stricts.

En plus de l'aspect sanitaire, les consommateurs veulent également consommer « proprement » et « intelligemment ». La naturalité, pour beaucoup, sous-entend une absence d'ajouts synthétiques, tels les colorants et les arômes artificiels. Les cultures doivent être propres, respectueuses à la fois du consommateur et de l'environnement. Le gaspillage est à limiter fortement, voire à bannir. L'économie circulaire attire de plus en plus de consommateurs. Les entreprises se tournent naturellement vers la Recherche et Développement afin d'apporter de nouvelles solutions à ces problématiques. La Figure 116 indique la part des établissements ayant investi dans le R&D en 2017 dans le but de préserver l'environnement.



Figure 116 : Investissements en R&D en 2017 pour la préservation de l'environnement

Dans tous les domaines d'activités, pour s'ouvrir à une perspective favorisant l'innovation et pour aboutir à de nouveaux produits, les entreprises se tournent de plus en plus vers la



« Recherche et Développement » (R&D). L'agroalimentaire n'échappe pas à cette tendance quoique onéreuse et encore peu accessible pour les petites entreprises artisanales. Notons que plus de trois mille innovations voient le jour sur le marché français de l'agroalimentaire chaque année. Les plus grands producteurs développent leur propre pôle R&D, tandis d'autres privilégient des partenariats avec des centres de recherche publique comme les grands organismes de recherche et les universités.

Cet investissement s'inscrit dans une optique de veille concurrentielle et technologique inhérente à l'Intelligence Économique. Il permet d'assurer un caractère innovant et un constant contrôle de qualité de leurs produits afin de respecter au mieux les nouvelles exigences réglementaires. La recherche et l'extraction de composés toxiques interdits ou dont la teneur est limitée (substances licites, allergènes...) permet d'augmenter la comestibilité du produit. Cet investissement permet, également, de mieux répondre aux préférences organoleptiques de ces consommateurs. C'est le cas, par exemple, de la népète (*Calamintha nepeta*)<sup>160</sup>. Cette Plante à Parfum, Aromatique et Médicinale (PPAM) méditerranéenne est utilisée dans la cuisine corse traditionnelle. Son huile essentielle et son hydrolat présentent des propriétés aromatiques et biologiques très recherchées en agroalimentaire mais également en cosmétique. Cependant, certains de ses composés, comme le limonène, ont un potentiel allergène<sup>161</sup>. Il est donc nécessaire de quantifier de tels composés dans les ingrédients végétaux utilisés (Huiles essentielles, Hydrolats, Extraits) et, le cas échéant, de trouver le moyen ECO de limiter leur teneur. Pour rester sur l'exemple du limonène, le règlement UE de 2009 rend obligatoire son étiquetage avec une teneur plafonnée à 0,01% dans le produit fini. Un produit BIO donne à l'Entreprise un avantage certain sur ces concurrents.

Dans l'agroalimentaire, l'éveil des perceptions et des intérêts gustatifs mène également les consommateurs à adapter leur alimentation. Dans le domaine brassicole, ils ont tendance à se tourner vers des bières au profil organoleptique recherché, mais aussi en bouteille recyclée et recyclable. Les bières de soif sans authenticité attirent moins !

Dans cette optique, le BIO se standardise. Longtemps trop cher, il devient désormais accessible à tous. En Corse, cette évolution est encore plus flagrante. Depuis 2009, l'île est

devenue la région de France leader de la culture biologique avec plus de 6300 hectares. La Figure 117 montre cet accroissement de la surface sur le territoire insulaire entre 2010 et 2018.

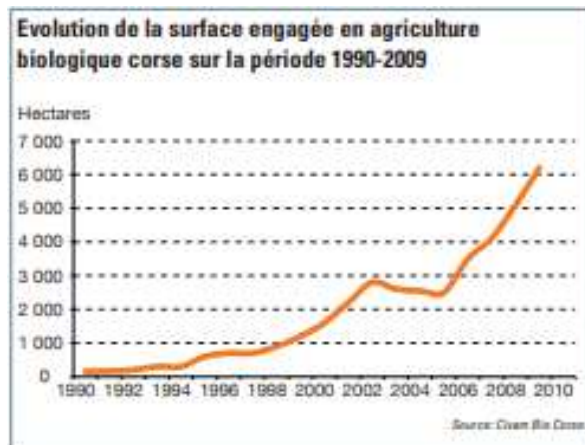


Figure 117 : Superficie en mode de production biologique en Corse

Le développement de l'agriculture biologique a été induit par une structuration de la filière à travers la création d'une association dénommée « Civam » puis « Bio Corse ». Dans la même optique, la démarche de qualité des produits corses a abouti à des certifications géographiques. Celles-ci sont un outil efficace de protection des savoir-faire permettant de pérenniser les activités de production et de protéger l'économie des milieux ruraux. De nombreux produits issus du secteur de l'agroalimentaire corse ont obtenu la reconnaissance de leur qualité par l'obtention de ces signes officiels. En Corse, nous pouvons en décompter cinq :

- L'Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) est une certification officielle française attribuée à un produit qui tire son authenticité de son origine géographique.
- L'Appellation d'Origine Protégée (AOP) est la transposition de l'AOC de Corse au niveau européen. C'est le cas notamment des vins, des miels, de la farine de châtaigne, de l'huile d'olive et plus récemment du brocciu et de la charcuterie.
- Le Label Rouge garantit qu'un produit possède des qualités gustatives supérieures à celles des produits similaires.
- L'indication géographique protégée (IGP) distingue un produit qui bénéficie d'un lien à un territoire et d'une notoriété. C'est le cas de la clémentine de Corse.
- Le label Agriculture Biologique (AB) est européen et garantit un contrôle et une transparence des produits dans le respect de l'environnement.

Cette prise de conscience s'accroît et s'accroîtra encore dans les années à venir en raison des retombées sanitaires des dernières décennies (agriculture intensive, pollution, alimentation non-responsable, etc.). La pandémie de la Covid-19 en est l'exemple représentatif, car elle

contribue à renforcer le besoin de traçabilité des produits agroalimentaires. Avec cette pandémie, les habitudes de consommation changeront de façon significative. L'épidémie de SARS de 2003, n'ayant pourtant infecté que 8.000 personnes, a coûté plus de cinquante milliards de dollars à l'économie mondiale. Déjà, la Covid-19 a un impact bien plus fort que le précédent virus. Les cinq cents entreprises américaines les plus influentes ont vu leur valeur chuter de 11,5% la semaine même de l'arrivée de la pandémie aux Etats-Unis. La Covid-19 a causé et continuera de causer une récession drastique dans de nombreux pays, comme le pronostiquent la Figure 118 et la Figure 119.

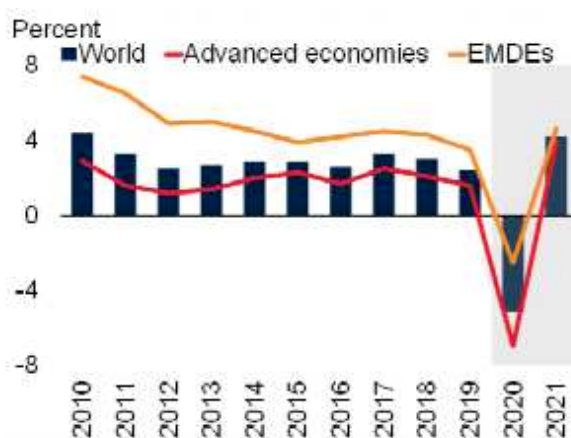


Figure 118 : Croissance globale (zones grisées estimées)<sup>162</sup>

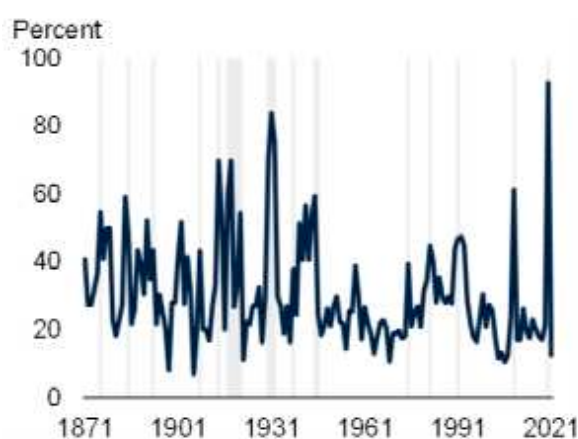


Figure 119 : Part des marchés globaux en récession<sup>162</sup>

De nombreux domaines économiques ont été et seront touchés par la pandémie. Le pouvoir d'achat des ménages diminuera, renforçant ainsi les changements prévus dans leurs habitudes

de consommation. C'est notamment le cas dans l'alimentaire comme l'indique la Figure 120, domaine pour lequel on prévoit une chute de 10 % du pouvoir d'achat.

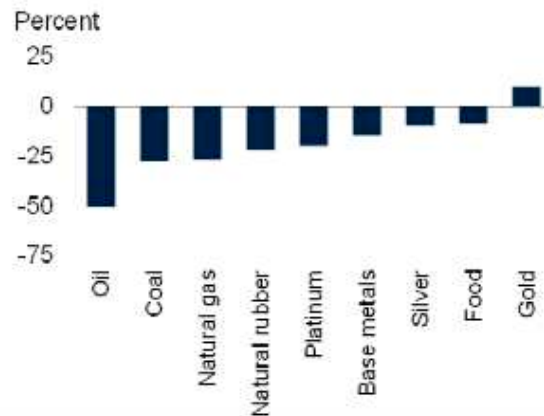


Figure 120 : Influence de la Covid-19 sur les prix depuis janvier 2020<sup>163</sup>

En plus d'inciter les consommateurs à se tourner vers des produits sains respectueux de l'environnement, la pandémie aura également l'effet de conforter les populations dans leur besoin de retour à une consommation de proximité.

### C. Vers le 100 % local

#### 1. Commerce de proximité

De nombreuses raisons évoquées supra conduiront probablement les consommateurs à se tourner vers un commerce de proximité, notamment dans les domaines alimentaire et agroalimentaire. Depuis plusieurs années est apparu le besoin d'un circuit court de produits fabriqués directement dans les régions où ils sont consommés. Ce besoin est souvent encouragé par des motivations écologiques en opposition avec la réalité économique. Depuis, cette vision a grandement évolué. On parle désormais d'autonomie stratégique de consommation et de souveraineté alimentaire et sanitaire. Les populations prennent la mesure de leur écosystème et se fidélisent à un commerce de proximité encourageant, ainsi, les productions locales, les produits régionaux et la vente directe. Dans un contexte global, l'idée de recréer un lien entre les villes et les milieux ruraux réapparaît en France. La proximité évoquée peut donc ainsi être géographique, mais également relationnelle. Ce rapprochement est visible dans de nombreux

territoires français et européens. La Figure 121 montre que la part des achats « en local » dans l'agroalimentaire a augmenté 24,14 % entre 2011 et 2016 dans la ville de Rouen.

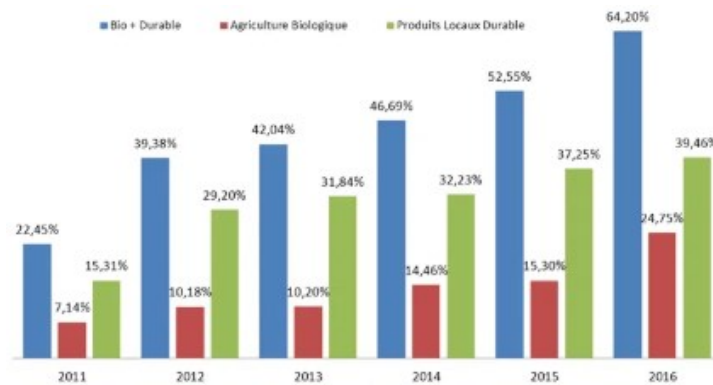


Figure 121 : Évolution des achats bio et locaux à Rouen (Source : SIREST)

Pour les producteurs de l'agroalimentaire artisanal, ce rapprochement a un impact positif, car ceux-ci cultivent déjà une proximité relationnelle et une image de spécialistes vis à vis des consommateurs. Avec cette tendance, des opportunités supplémentaires sont à saisir en renforçant les partenariats avec la production locale et coopération entre entreprises d'un même domaine. Ces clusters ont déjà démontré leur efficacité dans le domaine agroalimentaire artisanal. C'est le cas notamment du cluster de brasseries dans le quartier de Pearl à Portland (USA). Ce quartier doit son récent renouveau à l'association de micro-brasseries artisanales favorisant l'échange de matières premières entre elles. Ces brasseries travaillent également avec des entreprises artisanales d'autres domaines, comme des restaurants et des centres d'art. Là-bas, comme dans de nombreux clusters de brasseries en Europe, les bières sont très locales. Dans cette nouvelle vision de la bière artisanale, certaines micro-brasseries décident de fabriquer leurs produits uniquement avec des ingrédients de proximité, voire cultivés par l'Entreprise.

C'est le cas de la brasserie Ribella à Patrimonio (Corse), qui développe ses nouveaux produits par le biais d'une réflexion autour de l'utilisation organoleptique de la biodiversité insulaire. Ainsi, dans le cadre de mes travaux doctoraux, il m'a été donné

- d'identifier et de quantifier les composés aromatisants et autres constituants des eaux de trempage et retrouvés dans la bière.

- de développer une méthode d'analyse par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem des constituants du houblon non quantifiés par les méthodes usuelles dans le but de mieux définir le caractère amérisant du végétal et l'impact de son incorporation dans le produit.

Ces études de R&D permettent de fournir des informations scientifiques fiables jouant un rôle déterminant d'aide à la décision pour les chefs d'entreprise et, d'une façon plus générale, pour les responsables politiques. Outre la valorisation du produit fini, ces études servent à la valorisation économique des matières premières locales.

## 2. Développement d'une brasserie 100 % locale

La transition d'une brasserie artisanale vers le 100% local est longue et peu aisée ; de nombreux critères doivent être pris en compte. Les bières Ribella (Figure 122) s'inscrivent dans une optique d'économie de proximité, de produits respectueux du Consommateur et de l'Environnement ainsi que d'Autonomie Alimentaire.



Figure 122 : Bières Ribella

En 2019, dans le cadre du partenariat Université de Corse - Brasserie Ribella pour la préparation de ma thèse de doctorat sous CIFRE (Conventions Industrielles de Formation par la Recherche), j'ai participé activement à la conception et à la construction de la première houblonnière de Corse. Le houblon, ingrédient clé de l'aromatisation de la bière, était jusqu'à présent importé de différents pays européens vers les brasseries insulaires Or, du Houblon pousse spontanément en Corse dans la plupart des rivières et n'a jamais encore été utilisé dans la fabrication d'une bière. Un hectare de terrain agricole a été aménagé en houblonnière (Figure 123) près de la brasserie. Cette proximité a été décidée afin de réduire les coûts et la pollution liés au transport des cônes de houblon vers la brasserie. Nous y avons planté trois variétés commerciales (Cascade, Smaragd et Tettnanger). Deux échantillons de houblon de Corse mis en culture en 2015 (Corte et Canale) ont, également, été transplantés.



Figure 123 : Préparation de l'houblonnière mars 2019 (gauche) et mai 2020 (droite)

La qualité de l'eau est un paramètre de la plus grande importance dans la confection des bières. Longtemps sous-estimé, son impact organoleptique est désormais communément admis. Brassier avec une eau saine et non polluée est une problématique souvent rencontrée dans les brasseries artisanales, car c'est une ressource rare et coûteuse. Les bières Ribella sont brassées avec de l'eau de source de Patrimonio, à proximité directe de l'établissement, dans des conditions respectueuses de l'Environnement et du Consommateur.

Les levures sont présentement à l'étude dans les laboratoires de la brasserie. Elles sont actuellement importées du continent. Le développement d'une souche corse de *Saccharomyces cerevisiae* est prévu en collaboration avec l'Institut National de la Recherche Agronomique et, si les tests prometteurs sont confirmés, pourra bientôt servir à la fermentation d'une majorité de brassins.

Le dernier ingrédient indispensable à la confection de la bière est l'orge. Outre la limitation des pollutions et celle des coûts liés aux transports, brassier sa propre céréale valorise un savoir-faire ancestral. Avant la seconde guerre mondiale, chaque village de Corse était doté d'un moulin. La culture du blé et de l'orge était vitale pour toutes les familles (Figure 124). Dans les années 60, la culture céréalière de Corse a grandement diminué, face à la concurrence des grandes meuneries du continent et d'Europe.





*Figure 124 : Culture céréalière à Ajaccio avant 1960*

Le retour à une exploitation céréalière en Corse est bénéfique à la fois culturellement et économiquement. La brasserie Ribella privilégie ce retour en brassant une orge de Corse cultivée à proximité de l'Établissement. Cette initiative garantit un tracé direct de la matière première, un contrôle de la qualité, un impact carbone très limité ainsi qu'un avantage économique pour la brasserie et le territoire. L'ouverture prochaine de la première malterie de Corse par la brasserie permettra de sécher et malter les grains directement sur le territoire, renforçant ainsi l'autonomie de la brasserie. L'impact sur l'île est d'autant plus important que cette malterie pourra servir aux autres brasseries artisanales et leur éviter ainsi un coût d'export/import et un traitement par des entreprises extérieures à l'île.

De plus, Ribella joue un rôle important dans la résurgence de la filière « graines » en Corse (i) en recyclant les drêches d'orge qui sont compostées ou réutilisées dans la fabrication de pains traditionnels et (ii) en se positionnant comme acteur majeur d'événements culturels et socio-politiques tels le festival annuel Ribellazione (Figure 125).

Cette ambition d'économie entièrement circulaire est inhérente au 100% local. La gestion des déchets est devenue une question incontournable, notamment en Corse qui est depuis vingt ans l'une des régions françaises les plus touchées par la crise afférente au traitement des déchets. Il ne reste aujourd'hui en Corse que deux centres d'enfouissement techniques. Depuis 2015, leur capacité administrative de stockage est accrue chaque année par arrêté préfectoral, dans l'attente de l'ouverture d'un nouveau site de stockage.





Figure 125 : Festival Ribellazione encourageant le 100 % local

L'île se tourne donc naturellement vers le recyclage. Dans cette vision, la brasserie Ribella réutilise (i) son orge comme écrit supra, (ii) ses eaux de brassage pour l'arrosage de l'houblonnière et (iii) les parties non utilisées du houblon pour renforcer l'aromatisation de ses bières (voir à la suite). D'autres projets sont également en cours, comme l'aménagement du terrain agricole de l'houblonnière au moyen de pousses de moutarde utilisées ensuite comme paillage naturel. L'ambition est de ne rien jeter et donc de tout réutiliser.

Pour l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME), l'économie circulaire se compose de différents axes d'orientation formant les 7 piliers de l'économie :

- Le recyclage
- L'approvisionnement durable
- L'écoconception
- L'écologie territoriale
- L'économie de la fonctionnalité
- L'allongement de la durée d'usage par le réemploi et la réparation
- La consommation responsable

Tous ces points sont respectés et encouragés par la Brasserie Ribella. Nous pouvons ainsi affirmer que cette brasserie artisanale est en transition vers le 100% local. Néanmoins, de nombreux points sont encore à développer avant d'atteindre la totale autonomie.

### 3. Développement d'une certification « Biera di Corsica »

Produire local et sain est devenu indispensable pour les brasseries artisanales si elles veulent concurrencer les géants industriels. Le 100% local attire, mais de nombreuses brasseries industrielles leurrent encore les consommateurs sur la provenance de leurs produits. Dans le climat sanitaire actuel et l'éveil environnemental explicité précédemment, il devient nécessaire de fournir aux consommateurs une transparence totale des ingrédients et une traçabilité de l'intégralité de la séquence de fabrication.

C'est précisément cette transparence que le Syndicat National des Brasseurs Indépendants (SNBI) cherche à normer<sup>164</sup>. Il a pour ambition de « fédérer, représenter, aider et défendre » l'ensemble des brasseries artisanales françaises et se place ainsi en confrontation directe avec les géants de l'industrie de la bière. Pour cela, le SNBI a mis en place un label de qualité différenciant de manière positive les bières locales et artisanales de celles jouant sur un aspect artisanal sans en respecter la charte. Ce label, dont le logo est donné à la Figure 126, porte le nom de Brasseur Indépendant (BI) et ne peut être obtenu qu'en respectant dix règles strictes excluant les grandes brasseries industrielles :

- Être producteur de bière dans une petite brasserie indépendante
- Être situé en France pour l'intégralité de la chaîne de production
- Ne pas sous-traiter la production
- Indiquer clairement le nom et l'adresse du brasseur sur l'étiquette
- Inscrire clairement la composition du produit sur l'étiquette
- Ne produire qu'à partir d'ingrédients naturels ou d'origine naturelle
- N'utiliser aucun additif artificiel
- Respecter la réglementation relative à l'hygiène et à la sécurité alimentaire en vigueur
- S'engager dans une démarche de qualité microbiologique des bières
- S'engager à respecter l'ensemble de la réglementation en vigueur en France

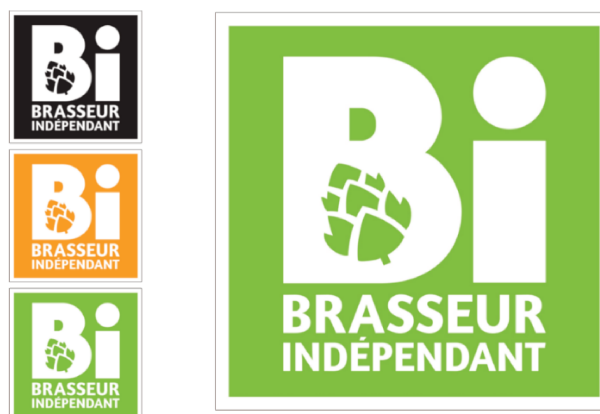


Figure 126 : Label BI

Les bières de la brasserie Ribella ont obtenu le label BI en 2020. Même si les réglementations strictes du label incitent les brasseries à produire respectueusement et en France, à ce jour, aucune certification ne permet de prouver la proximité régionale d'une bière. L'unique moyen de garantir cette origine, surtout dans une région insulaire et culturellement riche comme la Corse, est de créer une certification géographique au même titre que les AOC, AOP ou IGP. Même si l'histoire de la bière est très récente sur le territoire, elle s'inscrit dans une démarche qualitative et s'inspire d'un savoir-faire agroalimentaire ancien qui lui octroie le droit à une certaine reconnaissance géographique et culturelle.

L'Appellation d'Origine Protégée et l'Indication Géographique Protégée sont définies par le règlement du Parlement européen et du Conseil n°1151/2012 relatif aux systèmes de qualité applicables aux produits agricoles et aux denrées alimentaires, pour les produits faisant partie du champ d'application de ce règlement. L'Appellation d'Origine Protégée est une dénomination qui identifie un produit originaire d'un lieu déterminé et dont (i) la qualité est due essentiellement au milieu géographique et (ii) toutes les étapes de la production ont lieu dans ladite aire géographique. Cette certification est reconnue en France depuis 1905. L'Indication Géographique Protégée est une dénomination qui identifie un produit originaire d'un lieu déterminé et dont (i) une qualité est déterminée en fonction de son origine géographique et (ii) au moins une étape de fabrication a lieu dans ladite aire géographique. L'AOP et l'IGP constituent un patrimoine collectif et ne peuvent donc pas être la propriété d'opérateurs économiques à titre privatif. La demande d'enregistrement est portée par l'Institut National de l'Origine et de la qualité (INAO)<sup>153</sup>.

Le houblon de Corse présente des caractéristiques particulières au niveau de son potentiel amérisant, mais surtout au niveau de son aromaticité. Il a été démontré au cours de ce mémoire que ces particularités dépendent directement du terroir, ce qui signifie qu'une certification du houblon de Corse pourrait être envisagée. Une fois cette matière première reconnue comme porteuse d'une richesse culturelle, elle pourrait devenir un élément essentiel d'une labellisation de la bière. La charte d'un label « Biera di Corsica » (Figure 127) pourrait être :

- Réaliser l'intégralité de la chaîne de production sur le territoire insulaire
- Indiquer explicitement l'adresse de la brasserie et des cultivateurs des matières premières
- Inscrire clairement la composition du produit sur l'étiquette
- Au moins 95 % du poids sec des bières doit être constitué d'ingrédients cultivés en Corse
- Ne brasser qu'avec de l'eau de Corse
- S'engager dans une démarche de respect de l'environnement et de préservation culturelle
- Ne produire qu'à partir d'ingrédients d'origine naturelle et sans additif artificiel



Figure 127 : Logo imaginé pour le label « Biera di Corsica »

## V. Conclusion

La sphère agroalimentaire a été complètement remodelée par l'émergence de la « conscience écologique » et le monde brassicole ne fait pas exception. Dans cette transition vers le 100% local, la brasserie Ribella a su se démarquer par un partenariat actif avec l'Université de Corse lui permettant de valoriser le houblon, poussant spontanément sur le territoire insulaire en qualité de matière première, d'une part et plus généralement de valoriser les PPAM locales, d'autre part. Cette initiative s'inscrit dans une démarche de valorisation et de promotion des produits agroalimentaires de Corse et dans une veille concurrentielle stratégique. La Convention de Recherche liant l'Entreprise et l'UMR est un exemple de l'intérêt nouveau que portent les brasseries artisanales à l'Intelligence Économique à travers son aspect R&D.

Au-delà du contenu académique, la préparation de cette thèse de doctorat sous CIFRE m'a permis une familiarisation aux problématiques de l'Entreprise et notamment celle de l'Intelligence Économique en me confrontant à une réflexion autour du produit, autour de la valorisation des matières premières et du développement d'une économie circulaire. Les CIFRE sont un outil permettant de participer à l'orientation de la démarche universitaire vers la production de connaissances concrètes et d'informations fiables jouant un rôle déterminant pour l'Innovation et pour l'aide à la décision tant au niveau des décideurs économiques que politiques. Dans ce cadre partenarial, elles permettent de générer des apports mutuels pour les parties contractantes de la convention. Pour le monde scientifique, la CIFRE permet des échanges de connaissances. Pour l'entreprise, ces recherches conduisent à l'introduction d'un nouveau savoir-faire. Pour le doctorant, elles permettent une interaction personnelle avec les représentants de l'entreprise et du laboratoire. Personnellement, ma présence dans l'Entreprise me donne l'opportunité de valider (ou non) « mes théories », d'expérimenter et de mettre en perspective mes recherches tout en bénéficiant de la proximité des acteurs.

L'éveil socio-économique induit par le DU-IE a changé ma vision des sphères politique et entrepreneuriale. En outre, cet éveil m'a conduit à prendre conscience de l'importance de la valorisation des ressources locales.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Le développement industriel du XX<sup>e</sup> siècle a engendré une baisse constante de l'utilisation des matières premières naturelles dans le monde de la chimie et de l'agroalimentaire. Depuis une trentaine d'année, cette tendance semble s'inverser avec l'émergence de la « conscience écologique ». Tandis que les dérèglements climatiques s'amplifient et que les ressources s'amointrissent, les consommateurs d'aujourd'hui cherchent à limiter leur impact. C'est à travers une économie locale et circulaire, ainsi que l'utilisation de bioressources et de *produits authentiques* qu'ils s'inscrivent désormais dans une démarche de respect de l'Homme et de l'Environnement. Le monde brassicole ne fait pas exception à ce remodelage. Dans cette transition vers le 100% local, la brasserie Ribella a su se démarquer par un partenariat actif avec l'Université de Corse lui permettant de valoriser le houblon, poussant spontanément sur le territoire insulaire en qualité de matière première. Cette initiative s'inscrit dans une démarche de valorisation et de promotion des produits agroalimentaires de Corse.

L'objectif de ce travail de Thèse était de déterminer précisément et pour la première fois les caractéristiques brassicoles des houblons de Corse à travers une double étude morphologique et chimique. En préalable, une stratégie d'échantillonnage au niveau de l'île, la construction de la première houblonnière de Corse et le renforcement génétique par hybridation manuelle ont été initiés en vue de la mise en exergue de la typicité des houblons insulaires et de l'impact du terroir corse sur ces différents aspects.

Les analyses morphologiques réalisées sur les houblons de Corse et sur les cultivars commerciaux les plus fréquents transplantés dans l'houblonnière expérimentale montrent une forte influence de la proximité marine et un impact environnemental et pédoclimatique conséquent sur le polymorphisme du houblon. La caractérisation phénotypique des plants de cultivars commerciaux transplantés en Corse suivie sur les trois années effectives d'expérimentation démontre un important potentiel d'acclimatation du végétal au terroir corse.

L'aspect chimique est d'une importance majeure pour la détermination du potentiel brassicole des houblons. Dans cette optique, des approches analytiques basées sur l'utilisation

de la complémentarité des techniques chromatographiques et spectrométriques ont été mises en place pour la caractérisation des métabolites secondaires : il s'agit de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée ou non à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et de la chromatographie en phase liquide associée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM). Des analyses des fractions légères (huiles essentielles) des houblons de Corse spontanés ont été menées pour la première fois. Les composés majoritaires sont le  $\beta$ -sélinène, le zingibérène et l' $\alpha$ -sélinène. Ces analyses révèlent une composition chimique quantitativement différente des huiles essentielles des cultivars commerciaux, mais également une diversité géographique importante au sein des houblons corses. La typicité des huiles essentielles des houblons spontanés de Corse a été mise en lumière ainsi que leur grand intérêt de par l'abondance du zingibérène, composé aux arômes épicés très recherchés dans le monde brassicole. Un total de 28 composés a été quantifié dans les fractions lourdes et l'influence des variations climatiques interannuelles sur leur composition chimique a été mise en lumière. L'étude des cultivars transplantés a montré une acclimatation rapide des houblons aux nouvelles conditions de culture et au terroir corse, tandis que la mise en culture des houblons spontanés a conduit à une augmentation des teneurs en composés d'intérêt. Une analyse métabolomique des cônes de houblon a permis l'identification de trente-quatre composés par la méthode innovante des *réseaux moléculaires*.

Alors que les feuilles et tiges du végétal sont considérées comme des « déchets de brassage », l'analyse de leurs fractions légères et lourde a prouvé qu'une valorisation économique et organoleptique était envisageable.

En ouverture à ce travail, l'étude génétique des houblons de Corse a montré l'affinité de certains spontanés avec les cultivars Tettninger et Cascade, ce qui conduit à penser que ces accessions seraient originaires d'Europe centrale et de Grande-Bretagne, respectivement.

Afin de déterminer le potentiel brassicole des houblons de Corse, ce mémoire de Thèse s'est donc porté sur les analyses morphologiques, chimiques et génétiques du végétal. Au-delà du contenu académique conséquent qui ouvre la voie à la compréhension de l'origine et du devenir du houblon de Corse, ces avancées permettent la valorisation économique et culturelle

immédiate de la ressource locale et pourraient faire de la Corse le tremplin d'une filière brassicole méditerranéenne basée sur un gage de qualité organoleptique, de transparence et de respect de l'Environnement.



# PARTIE EXPÉRIMENTALE

## ANALYSES DE SOL

Le test du bocal permet de déterminer la granulométrie d'un sol. Il s'agit de tamiser un échantillon de terre afin de se débarrasser des plus gros débris (graviers), de placer 1/3 de terre tamisée dans 2/3 d'eau pour un volume total d'un litre, d'agiter longuement afin de dissocier les agglomérats de grains, puis de laisser décanter durant 24h. Les différents grains décantent plus ou moins rapidement selon leur taille et leur masse.

Les autres analyses, à savoir la mesure du pH, la quantification des composés organiques du phosphore, les analyses élémentaires et la quantification des macro-éléments et des oligo-éléments, ont été réalisées en sous-traitance par le laboratoire Capinov en suivant les normes ISO 11464, 11465, 10390, 10694, 13878, 11263, 22036 et 10693 ainsi que les normes NF X 31-160, 31-161, 31-130, 31-108, 31-120 et 31-122.

## ANALYSES STATISTIQUES

### *Morphologie des houblons*

Des analyses ont été réalisées sur les données correspondant aux caractérisations morphologiques des houblons commerciaux avant et après transplantation, des houblons poussant spontanément en Corse et des houblons corses mis en culture au moyen du logiciel opensource Rstudio (version 1.2.5001). Dans tous les cas, les données standardisées ont été placées sous forme de matrice de dissimilarité en utilisant le calcul des distances euclidiennes entre chaque point, deux à deux. L'arbre hiérarchique résultant de la liaison de cette matrice a été représenté graphiquement sous la forme d'un dendrogramme. Les fonctions utilisées pour ces transformations sont respectivement « dist » et « hclust » du package Factoextra.

### *Huiles essentielles*

Des analyses statistiques des huiles essentielles ont été réalisées en partenariat avec la Pr. Nathalie Dupuy de l'Université d'Aix-Marseille. Les ACP ainsi que les PLS-DA ont été effectuées à l'aide du logiciel Unscrambler version 10.5 de CAMO (Computer Aided MOdeling, Trondheim, Norvège).

En ce qui concerne les caractéristiques aromatisantes des houblons spontanés, les données relatives aux composés ciblés ont été moyennées par station indépendamment de l'année de récolte. Ces valeurs ont, ensuite, été soumises à une analyse statistique aux moyens du logiciel opensource Rstudio (version 1.2.5001). L'ACP a été obtenue par l'application de la fonction « PCA » du package FactoMineR et de la fonction « fviz\_pca\_biplot » du package Factoextra.

Les dendrogrammes de la composition chimique des huiles essentielles des cultivars commerciaux transplantés et des houblons spontanés corses mis en culture ont été réalisés aux moyens du logiciel opensource Rstudio (version 1.2.5001) de la même manière que supra (*Morphologie des houblons*).

### ***Fractions lourdes***

Les données relatives aux fractions lourdes des houblons étudiés ont été analysés aux moyens du logiciel opensource Rstudio (version 1.2.5001). Les ACP ont été tracées par l'application de la fonction « PCA » du package FactoMineR et de la fonction « fviz\_pca\_biplot » du package Factoextra.

### ***Génétique***

Cette partie a été effectuée en collaboration avec l'équipe du Pr. Tommaso Ganino de l'Université de Parme. Les fragments d'ADN résultant de l'amplification des marqueurs SSR ont été analysés aux moyens d'une approche de regroupement de données par classe (*binning*) du logiciel opensource R (R Development Core Team 2005). Cette méthode prend en considération le type de marqueur étudié. Les différences entre les houblons examinés ont été évaluées à l'aide d'une matrice de similarité génétique en utilisant le calcul des distances euclidiennes. L'analyse typologique et la construction du dendrogramme relatif aux distances génétiques ont été obtenues en utilisant la méthode des groupes de paires non pondérées avec moyenne arithmétique (UPGMA), avec les logiciels Genetix et XLSTAT 2009 (AddinsoftTM 1995–2009). Une analyse de clustering univariée a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT 2009 (AddinsoftTM 1995–2009) pour discriminer les génotypes.

## ÉTUDE CLIMATIQUE

Les suivis climatiques mis en relation avec les analyses morphologiques des houblons ont été relevés sur le site officiel de Météo France : <https://meteofrance.com/> ou sont issus de la base de données ouverte : [www.climate-data.org/](http://www.climate-data.org/).

## HYDRODISTILLATION

Les hydrodistillations des cônes de houblon ont toutes été réalisées dans les mêmes conditions expérimentales. Dans un ballon de 6 L surmonté d'un appareil de Clevenger refroidi au glycol à 4°C, 200 g de cônes ont été immergés jusqu'aux deux tiers du ballon, puis portés à ébullition durant 4h. Dans certains cas, l'hydrolat a été récupéré durant la première heure dans un flacon de 1 L. Après les hydrodistillations, les huiles essentielles ont été prélevées, puis injectées en CPG-DIF et CPG-SM. Les composés volatils des hydrolats ont été isolés par extraction liquide/liquide.

Les hydrodistillations de l'ensemble tiges-feuilles du houblon ont été réalisées sous le même montage, mais les durées de chauffage ont été optimisées sur l'intervalle 3 - 6 h afin d'adapter la méthode aux composés ciblés. La durée retenue a été de 4h. Comme les hydrodistillations n'extrayaient pas assez de phase organique pour permettre un prélèvement et que les conditions du laboratoire ne permettaient pas d'augmenter la quantité de matrice végétale, les analyses se sont portées sur le mélange hydrolat/huile essentielle. Ce mélange a été soumis à une extraction liquide/liquide.

## EXTRACTION LIQUIDE/LIQUIDE

Les hydrolats des feuilles-tiges du houblon ont été mélangés aux huiles essentielles de cette combinaison, puis soumis à une extraction liquide/liquide au diéthyloxyde. Les composés volatils des phases aqueuses ont été extraits par 3x50 mL de diéthyloxyde. Les phases organiques réunies ont été séchées au sulfate de sodium anhydre, puis concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les différents extraits ont été injectés en CPG-DIF et CPG-SM.

Les bières RIBELLA ont été soumises à une extraction liquide/liquide à différents solvants. Des volumes de 100 mL de bière ont été dégazés au sonicateur durant 30 mn, puis filtrés sur Bushner afin de retirer les plus grosses particules du houblon et les impuretés. Ces bières ont ensuite été filtrées sur filtre PTFE 0,2 µm, cette fois afin de retirer les levures, puis extraites

dans une ampoule à décanter par 3x50 mL de diéthyloxyde, d'acétate d'éthyle ou de dichlorométhane. Les extractions créaient de fortes émulsions qui ont dû être cassées par centrifugation à 2000 rpm durant 20 mn. Le meilleur solvant s'est avéré être le diéthyloxyde en raison de son affinité avec les composés volatils recherchés, sa faible solubilité dans les mélanges eau-éthanol, ainsi que son évaporation rapide. Les extraits ont finalement été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis injectés en CPG-SM et CPG-DIF.

## CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

### *CPG-DIF*

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 600 (Walton MA, USA), équipé de deux colonnes capillaires Restek, Bellefonte, PA, 9 USA) Rtx-1 (polydiméthylsiloxane, 60 m x 0,22 mm d.i., 0,25 µm de film de phase stationnaire) et RtxWax (polyéthylène glycol, 60 m x 0,22 mm d.i., 0,25 µm de film de phase stationnaire) couplées à un détecteur à ionisation de flamme. Le gaz vecteur est le dihydrogène (0,7 ml.mn-1) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250° C et celle du détecteur de 280° C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230° C, à 2° C.mn-1, puis en un palier de 30 mn à 230° C. Les indices de rétention (Ir) des composés sont déterminés par comparaison avec une série d'alcane linéaires (C5-C30) en solution commerciale (Restek, Bellefonte, PA, USA).

### *CPG-SM*

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 680 (Walton, MA, USA), doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (identiques à celles utilisées supra), couplé à un spectromètre de masse Perkin Elmer SQ 8 C. Les paramètres du chromatographe sont les mêmes que ceux décrits pour la CPG-DIF. La quantité d'huile essentielle injectée est de 1,0 µL. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV et la détection s'effectue avec un analyseur quadripolaire. La température de la source d'ions est de 150 °C et l'acquisition est réalisée en balayage de tension (mode scan) sur une gamme de rapports m/z de 35 à 350 amu. Le temps de balayage a été fixé à 1 s.

### *Identification des composés volatils des HE et des extraits*

Les extraits étudiés et les huiles essentielles ont été traités de la même manière ; la quantité injectée est de 1,0 µL en mode manuel. Au moyen d'un Détecteur à Ionisation de flamme (DIF),

chaque constituant est caractérisé par son temps de rétention et ses indices de rétention (Ir). Afin de contourner d'éventuelles coélutions, les extraits et huiles essentielles sont analysés simultanément sur deux colonnes de polarité différente et les constituants des mélanges sont identifiés sur la base des indices de rétention afférents : apolaires (Ira) et polaires (Irp). Cette analyse ne suffit pas à la caractérisation des composés, mais permet une quantification relative en pourcentages d'extrait ou d'huile essentielle.

Simultanément, la même quantité d'extrait ou d'huile essentielle est injectée dans le chromatogramme couplée au spectromètre de masse. L'analyse par CPG-SM permet d'obtenir le spectre de masse des différents constituants qui, à l'aide d'un logiciel, est comparé à ceux répertoriés dans des bibliothèques commerciales<sup>112,165,166</sup> mais aussi à ceux répertoriés dans une base de données élaborée au laboratoire. En effet, afin de rendre performante l'identification, il est préconisé de disposer d'une bibliothèque riche et adaptée au domaine d'investigation. La bibliothèque « Arômes », construite au laboratoire, a été élaborée à partir de données enregistrées dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour l'analyse des mélanges complexes, assurant ainsi une fiabilité accrue dans l'identification. Elle contient actuellement les indices de rétention sur deux colonnes de polarités différentes et les spectres de masse de plus de 1000 composés volatils dont plus de 700 molécules terpéniques. Cette bibliothèque a été constituée à partir de molécules disponibles dans le commerce et est enrichie continuellement par les données des molécules isolées par fractionnement des huiles essentielles ou encore obtenues par hémisynthèse et dans tous les cas, caractérisées, de façon certaine, par RMN.

Les données spectrales relatives à l'analyse par CPG-SM sont couplées aux indices de rétention déterminés par CPG-DIF et permettent une identification précise et une quantification relative des composés volatils d'un mélange donné, ici des extraits et des huiles essentielles.

### ***Quantification des composés volatils des bières***

Les extraits de bière purifiés et séchés ont été récupérés dans 5  $\mu$ L d'un mélange de diéthoxyde et de tridécane (standard interne, pour une concentration de 0,4 %). Un volume de 1  $\mu$ L de ce mélange a été injecté en CPG-DIF en suivant le protocole décrit supra.

La réponse de chaque composé volatil n'est pas la même en CPG-DIF et son facteur de réponse relative (RRF) doit obligatoirement entrer dans le calcul de leur quantification. En considérant la corrélation entre ce RRF et les enthalpies de combustion, Tissot et al.<sup>167</sup> ont développé une méthode de calcul précise de ce facteur :

$$RRF_x = \frac{1}{10^3 \times \frac{M_x}{M_{SI}} (-61,5 + 88,8n_C + 18,7n_H - 41,3n_O + 3,8n_N + 64,0n_S - 20,2n_F - 23,5n_{Cl} - 10,2n_{Br} - 1,07n_I + 127n_{Benz})}$$

Où :

x est le composé à quantifier.

$M_x$  est la masse molaire du composé.

$M_{SI}$  est la masse molaire du standard interne.

$n_C, n_H, n_O, n_N, n_S, n_F, n_{Cl}, n_{Br}, n_I, n_{Benz}$  sont, respectivement, le nombre de carbones, hydrogènes, oxygènes, azotes, soufres, fluors, chlores, bromes, iodes et cycles benzéniques dans la molécule.

Enfin de quantifier les molécules cibles dans les extraits de bière par CPG-DIF, la masse de chaque composé a été calculée de la manière suivante :

$$m_x = \frac{RRF_x \times m_{SI} \times A_x}{A_{SI}}$$

Où :

x est le composé à quantifier.

$m_x$  est la masse du composé.

$m_{SI}$  est la masse de standard interne.

$A_x$  est l'aire du composé relevée sur le chromatogramme.

$A_{SI}$  est l'aire du standard interne relevée sur le chromatogramme.

## ÉTALONNAGE POUR QUANTIFICATION CL/SM-SM

La réponse de chaque composé en CL-SM/SM dépend de son facteur de réponse  $a$  qui diffère selon les paramètres de l'analyse. Afin de le déterminer, des courbes de calibration ont été tracées pour les 21 composés à quantifier. Pour ce faire, les standards ont été mixés dans trois groupes distincts constitués de (i) la cohumulone, l'humulone, l'adhumulone, la colupulone, la lupulone et l'adlupulone, (ii) l'Hypéroside, la daticine, le kaempférol-3-O-rutinoside, la rutine, l'Isoquercitrine, le kaempférol-3-O-glucoside, la Quercétagétine et la Myricétine, (iii) la 8-prénylnaringénine, la 6-prénylnaringénine, le xanthohumol, l'isoxanthohumol, la 8-acétyl-6,7-diméthoxycoumarine, la 7-méthoxy-4-méthylcoumarine et la 3,4-dihydrocoumarine. Ces *mixs* de standards ont été mélangés dans du MeOH/H<sub>2</sub>O 50 : 50 pour des volumes totaux de 2,0 mL, puis dilués successivement dans ce même solvant binaire pour des concentrations en chaque composé de 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 50 µg/mL, 1 µg/mL, 500 ng/mL, 250 ng/mL, 125 ng/mL et 62,5 ng/mL. Un volume de 10 µL de chaque dilution a été injecté en CL-SM/SM. Deux courbes de calibration ont été tracées pour chaque analyte en fonction de deux de leurs

transitions MRM. Le facteur (ou coefficient) de réponse  $a$  a été déterminé grâce à ces courbes de calibration de fonction :

$$y = ax$$

Où :

$x$  est la concentration du composé.

$a$  est le coefficient directeur de la droite, à savoir le facteur de réponse du composé.

$y$  est l'aire du pic du composé en CL-SM/SM pour une transition MRM.

## MACÉRATIONS

Une méthode d'extraction des composés des fractions lourdes du houblon a été optimisée (cf : **Chapitre 4**). Les paramètres optimaux appliqués aux échantillons sont : la macération au MeOH/H<sub>2</sub>O (50 : 50) de 7,0 g de cônes ou 20,0 g de feuilles sous agitation orbitale durant vingt-quatre heures. Ces extraits ont ensuite été filtrés sur Bushner afin de retirer les particules de houblon, puis dilués dix fois dans 890  $\mu$ L du même solvant et 10  $\mu$ L d'éthylvanilline (standard interne) à 1 g/L. Après dilution, les extraits ont été purifiés sur filtres PTFE 0,2  $\mu$ m avant d'être injectés en CL-SM/SM.

## CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE

### **CL**

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Flexar FX-10 UHPLC doté d'un passeur automatique, de deux pompes, d'un dégazeur et d'une colonne LUNA 3U C18 (150 mm x 4,6 mm d.i, 3  $\mu$ m, Phenomenex) en phase inverse. La phase mobile est un mélange de solvants binaires en proportions variables de (i) H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> (771,00 mg/L) /HCOOH (100  $\mu$ L/L) et (ii) d'acétonitrile 100 %. Les extraits de cônes et de feuilles ont été préparés en suivant le protocole décrit supra. Le volume d'injection des échantillons est de 10  $\mu$ L.

### **SM/SM**

Le chromatographe en phase liquide est couplé à un spectromètre de masse ABI Sciex 3200 QTrap hydride triple quadripôle équipé d'une trappe d'ions linéaire (AB Sciex, Framingham, USA). Il dispose d'une source electrospray ESI (Turboionspray) pouvant être utilisée en mode

négatif et positif. L'azote est utilisé comme gaz de nébulisation, de désolvatation et de collision en mode MRM. Le logiciel de traitement des données spectrales est Analyst 1.6.

### ***Quantification des constituants de la fraction lourde par CL-SM/SM***

Pour chaque molécule quantifiée, une gamme étalon est préparée en suivant le protocole décrit supra. La réponse instrumentale (l'aire du pic de la transition de quantification) est exprimée en fonction de la concentration X de la molécule à l'aide d'une fonction mathématique de la forme :

$$\frac{Y_{\text{composé}}}{Y_{SI}} = a \frac{X_{\text{composé}}}{X_{SI}}$$

Où :

$Y_{\text{composé}}$  et  $Y_{SI}$  sont les aires de la transition MRM, respectivement du composé et du standard interne, détectée par le spectromètre de masse en mode MRM ;

$X_{\text{composé}}$  et  $X_{SI}$  sont les concentrations, respectivement du composé et du standard interne ;

a est le coefficient directeur de la droite d'étalonnage du composé à quantifier.

Pour chaque molécule quantifiée, les critères étudiés sont la répétabilité, les limites de détection (LD), les limites de quantification (LQ) et la linéarité. Chaque paramètre est étudié sur une gamme de concentration allant de 0,014 à 4,5 µg/ml. La préparation des extraits pour la quantification est réalisée en les diluant dans un mélange eau/ACN à une concentration finale de 150 mg/l, puis en les filtrant sur filtre PTFE 0,2 µm.

### ***Réseau moléculaire***

Cet outil innovant repose sur un postulat simple : les molécules structurellement proches partagent des voies de fragmentations similaires en spectrométrie de masse conduisant à des fragments ou des pertes de neutre en commun. Ainsi, dans les réseaux moléculaires, les spectres SM/SM d'un jeu de données sont comparés deux à deux par alignement spectral, puis un indice de corrélation, appelé similarité cosinus (*cosine score*), est attribué entre chaque paire de spectres. L'algorithme d'alignement spectral, sur lequel reposent les réseaux moléculaires, est dérivé d'outils bio-informatiques développés originellement pour l'analyse des protéines. Les données sont préalablement simplifiées par la fusion des spectres considérés comme identiques, puis l'alignement spectral est effectué sur chaque paire de spectre SM/SM sur la base des différences entre les valeurs des m/z et de leur intensité relative. Deux spectres superposables de ce type ont un *cosine score* de 1, alors que deux spectres sans ion ou perte de neutre commun ont un *cosine score* de 0. Les spectres ayant un *cosine score* supérieur à 0,7 ont une forte



similarité spectrale ; ils sont alors considérés comme issus de la fragmentation de constituants chimiquement apparentés. Les résultats sont ensuite interprétés graphiquement sous la forme de réseaux de similarité spectrale, dénommés par extrapolation réseaux moléculaires.

Les données spectrales obtenues par CL-SM/SM en mode EMS (méthode de fragmentation non ciblée de l'intégralité des ions moléculaires détectés) ont été traitées sur le site internet GNPS (<https://gnps.ucsd.edu/>) afin de calculer la matrice de similarité spectrale commune à tous les échantillons étudiés. Cette dernière a ensuite été illustrée sous la forme d'un réseau moléculaire via le logiciel Cytoscape 3.9.1.

Le processus d'identification des nœuds du réseau, à savoir des ions moléculaires détectés, est décrit dans le **Chapitre 4**.

## GÉNÉTIQUE

Les feuilles des cultivars commerciaux ont été récoltées dans leur région du Tettwang par les équipes de M. Ludwig Locher, puis envoyées à l'Université de Parme dans un contenant hermétique. Les feuilles des houblons spontanés de Corse ainsi que des cultivars commerciaux transplantés sur le littoral insulaire ont été récoltées, puis séchées et enfin, envoyées à l'Université de Parme dans un contenant hermétique.

### **Extraction**

L'ADN génomique a été extrait des jeunes feuilles. Les échantillons, après immersion dans l'azote liquide, ont été conservés à -80°C puis lyophilisés jusqu'à l'extraction de l'ADN. L'ADN génomique a été extrait selon le protocole CTAB<sup>168</sup>.

### **PCR**

Six marqueurs SSR connus comme étant discriminants en fonction de la localisation de pouce des houblons<sup>169</sup> ont été amplifiés par réaction de polymérisation en chaîne, ou *polymerase chain reaction* (PCR). L'amplification PCR a été réalisée dans un volume de 25 µl contenant : une dose de « Reaction Buffer » (Biotools, B&M Labs, S.A., Madrid, SP), 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Biotools, B&M Labs, S.A., Madrid, Espagne), 0,2 mM de dNTPs (Amersham Biosciences, Piscataway, USA), 0,2 µM d'amorces (MWG Biotech, Ebersberg), 20 ng d'ADN génomique et 0,6 U de polymérase Taq (Biotools, B&M Labs, S.A., Madrid, SP). Pour les amorces HIACA3 et HIGA23, la concentration en MgCl<sub>2</sub> était de 2,5 mM afin d'obtenir une meilleure qualité d'amplification.

Les amplifications PCR ont été réalisées dans le thermocycleur MJ PCT 100 Research (Watertown, Mass.), en utilisant le protocole d'amplification suivant :

- Un premier chauffage à 95°C pendant 5 minutes.
- 30 cycles de 45 sec à 94°C pour la dénaturation thermique de l'ADN.
- 30 cycles de 30 sec à la température d'hybridation spécifique à chaque couple d'amorces pour l'étape d'hybridation.
- 30 cycles de 90 sec à 72°C pour l'extension des amorces.
- Puis un dernier chauffage à 72°C pendant 8 minutes.

Les produits de l'amplification ont été séparés avec un séquenceur CEQ 2000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Inc.) sur gel d'acrylamide CEQ Separation Gel LPA-1 (Beckman Coulter, Inc.). Un marqueur CEQ DNA Size Standard kit 400 (Beckman Coulter, Inc.) a été utilisé pour estimer le poids moléculaire approximatif des produits amplifiés. L'une des deux amorces de PCR dans chaque réaction a été marquée aux extrémités avec un colorant fluorescent (Cy5, MWG-Biotech, Ebersberg). L'analyse a été réalisée en triplicats.

#### MICRO-EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE

La bière *Immurtale* de la marque RIBELLA a été soumise à une micro-extraction sur phase solide de silice. La phase stationnaire de la fibre utilisée (Supelco, Bellefonte, PA, USA) est DVB/CAR/PDMS. Les extractions ont été tripliquées. Le temps d'équilibre a été de 90 mn à 70°C. La fibre a été plongée dans l'espace de tête des échantillons (vials de 20mL) et le temps d'exposition a été de 30 mn à la même température. Après l'adsorption, la fibre a été insérée dans les injecteurs de la CPG-SM et de la CPG-DIF. La désorption a duré 5 mn. Avant tout nouvel échantillonnage, la fibre a été reconditionnée durant 5 mn dans l'injecteur de la CPG à 250°C.

#### LIKENS-NICKERSON

Les bières de la marque RIBELLA ont été soumises à une extraction de Likens-Nickerson au dichlorométhane. 330 mL de bière ont été dégazés au sonicateur durant 30 mn, puis portés à ébullition dans un Likens-Nickerson durant 3 h. La phase au dichlorométhane a été filtrée par filtre PTFE 0,2 µm, puis séchée au sulfate de sodium anhydre. Après évaporation totale par évaporateur rotatif, les extraits ont été repris dans 10 mL d'éthanol et ont été stockés au congélateur (-18°C) pendant une nuit. Après une nouvelle filtration par filtre PTFE 0,2 µm, les

extraits ont été entièrement évaporés, puis repris dans quelques gouttes de dichlorométhane pour l'injection en CPG-SM et CPG-DIF.

#### NOUVEAU CHAPITRE DE THÈSE

Toutes les données économiques relatives à l'agriculture, le tourisme et l'agroalimentaire ont été relevées sur le site officiel de l'Institut National de la Statistique et des Études Économiques (INSEE) : <https://www.insee.fr/>.

# ANNEXES

Tableau 34 : Description morphologique de Tettnanger

Caractéristiques morphologiques	TETTNANGER					
	Tett nang			Corse		
	Année 0	Année +1	Année +2	Année 0	Année +1	Année +2
Coloration anthocyanique	Faible	Faible	Faible	Faible	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>
Taille	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
Cloûre face supérieure	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Coloration face supérieure	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
Si vert, intensité du vert	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre
Floraison	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Taille	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Longueur	Long	Long	Long	Long	<b>Court</b>	<b>Court</b>
Longueur	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Court	Court
Densité du feuillage	Dense	Dense	Dense	Dense	Dense	<b>Moyen</b>
Nombre de cônes/nœud	Peu	Peu	Peu	Peu	Peu	Peu
Nombre total de cônes	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	<b>Peu</b>	<b>Peu</b>
Nombre total de cônes	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Maturité	Précoce	Précoce	Précoce	Précoce	Précoce	Précoce
Ouverture des bractées	Ouvert	Ouvert	Ouvert	Ouvert	Ouvert	Ouvert
Intensité du vert	Clair	Clair	Clair	Clair	Clair	Clair
Taille	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
Ratio Longueur/largeur	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
Longueur du sommet	Court	Court	Court	Court	Court	Court

Année 0 = Première saison de culture ; Année +1 = deuxième saison de culture ; Année +2 = troisième saison de culture. Les parties de la plante sont indiquées par couleur : tige principale ; Feuilles ; Fleurs ; Plante ; Tige secondaire depuis deuxième tiers de la plante ; Tige secondaire depuis le troisième tiers de la plante ; cônes ; bractées. En gras sont indiquées les modifications morphologiques majeures.

Tableau 35 : Description morphologique de Smaragd

Caractéristiques morphologiques	SMARAGD					
	Tett nang			Corse		
	Année0	Année+1	Année+2	Année 0	Année +1	Année +2
Coloration anthocyanique	Fort	Fort	Fort	Fort	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>
Taille	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
Cloûre face supérieure	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Coloration face supérieure	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
Si vert, intensité du vert	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre
Floraison	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Taille	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Longueur	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	<b>Court</b>	<b>Court</b>
Longueur	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Court	Court
Densité du feuillage	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible
Nombre de cônes/nœud	Peu	Peu	Peu	Peu	Peu	Peu
Nombre total de cônes	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	<b>Peu</b>	<b>Peu</b>
Nombre total de cônes	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Maturité	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif	Tardif
Ouverture des bractées	Ouvert	Ouvert	Ouvert	Ouvert	Ouvert	Ouvert
Intensité du vert	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre
Taille	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
Ratio longueur/largeur	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit	Petit
Longueur du sommet	Court	Court	Cour	Courte	Court	Court

Année 0 = Première saison de culture ; Année +1 = deuxième saison de culture ; Année +2 = troisième année de culture. Les parties de la plante sont indiquées par couleur : tige principale ; Feuilles ; Fleurs ; Plante ; Tige secondaire depuis deuxième tiers de la plante ; Tige secondaire depuis le troisième tiers de la plante ; cônes ; bractées. En **gras** sont indiquées les modifications morphologiques majeures.

Tableau 36 : Description morphologique de Cascade

Caractéristiques morphologiques	CASCADE					
	Tett nang			Corse		
	Année0	Année+1	Année+2	Année 0	Année +1	Année +2
Coloration anthocyanique	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	<b>Absent</b>	<b>Absent</b>
Taille	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Cloûre face supérieure	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Coloration face supérieure	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert	Vert
Si vert, intensité du vert	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre
Floraison	Précoce	Précoce	Précoce	Précoce	Précoce	Précoce
Taille	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Longueur	Long	Long	Long	Long	<b>Moyen</b>	<b>Moyen</b>
Longueur	Long	Long	Long	Long	Moyen	Moyen
Densité du feuillage	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	<b>Faible</b>
Nombre de cônes/nœud	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Nombre total de cônes	Beaucoup	Beaucoup	Beaucoup	Beaucoup	<b>Moyen</b>	<b>Peu</b>
Nombre total de cônes	Beaucoup	Beaucoup	Beaucoup	Beaucoup	Beaucoup	Beaucoup
Maturité	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	<b>Précoce</b>	<b>Précoce</b>
Ouverture des bractées	Fermé	Fermé	Fermé	Fermé	Fermé	Fermé
Intensité du vert	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Taille	Grand	Grand	Grand	Grand	Grand	Grand
Ratio longueur/largeur	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen
Longueur du sommet	Long	Long	Long	Long	Long	Long

Année 0 = Première saison de culture ; Année +1 = deuxième saison de culture ; Année +2 = troisième année de culture. Les parties de la plante sont indiquées par couleur : tige principale ; Feuilles ; Fleurs ; Plante ; Tige secondaire depuis deuxième tiers de la plante ; Tige secondaire depuis le troisième tiers de la plante ; cônes ; bractées. En **gras** sont indiquées les modifications morphologiques majeures.

## RÉFÉRENCES

- (1) Nuutinen, T. Medicinal Properties of Terpenes Found in Cannabis Sativa and Humulus Lupulus. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *157*, 198–228. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.076>.
- (2) Chadwick, L. R.; Pauli, G. F.; Farnsworth, N. R. The Pharmacognosy of Humulus Lupulus L. (Hops) with an Emphasis on Estrogenic Properties. *Phytomedicine* **2006**, *13* (1–2), 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.07.006>.
- (3) Coste, H. *Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes*; P. Klincksieck, 1906.
- (4) Brosse, J. *Larousse des arbres: dictionnaire de 1600 arbres et arbustes : botanique, mythologies, histoire : pour tout savoir sur les espèces qui peuplent nos contrées*; Larousse: Paris, 2010.
- (5) Chevallier, A. *Larousse des plantes médicinales*; Larousse: Paris, 2013.
- (6) Small, E. The Relationships of Hop Cultivars and Wild Variants of *Humulus Lupulus*. *Can. J. Bot.* **1980**, *58* (6), 676–686. <https://doi.org/10.1139/b80-086>.
- (7) Tembrock, L.; McAleer, J. M.; Gilligan, T. A Revision of Native North American *Humulus* (Cannabaceae). **2016**, *10*, 11–30.
- (8) Zhekun, Z.; Bartholomew, B. Cannabaceae. In *Flora of China*; 2003; Vol. 5, pp 74–75.
- (9) Murakami, A.; Darby, P.; Javornik, B.; Pais, M. S. S.; Seigner, E.; Lutz, A.; Svoboda, P. Molecular Phylogeny of Wild Hops, *Humulus Lupulus* L. *Heredity* **2006**, *97* (1), 66–74. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800839>.
- (10) Neve, R. A. Progress with New Varieties of Hops. *Journal of the Institute of Brewing* **1963**, *69* (2), 129–132. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1963.tb01907.x>.
- (11) Gamisans, J. *Flora Corsica*; Édisud, 2007.
- (12) Zanolli, P.; Zavatti, M. Pharmacognostic and Pharmacological Profile of *Humulus Lupulus* L. *Journal of Ethnopharmacology* **2008**, *116* (3), 383–396. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.011>.
- (13) Metcalfe, C. R.; Chalk, L. Anatomy of the Dicotyledons, Vols. 1 & 2. *Anatomy of the dicotyledons, Vols. 1 & 2* **1950**.
- (14) Chéreau, D. Le Houblon (Cannabinaeae) Classification et Étude Botanique, Culture, Principes Actifs et Applications Actuelles, Université de Limoges, Faculté de médecine et de pharmacie, 1990. <http://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/3a49c41c-b0cd-47b2-8b3e-675124b9d092/blobholder:0/P1990311.pdf>.
- (15) Deysson, G. *Organisation et classification des plantes vasculaires: Systématique. Deuxième partie*; SEDES-CDU, 1979.
- (16) Emberger, L.; Chadefaud, M. *Traité de botanique systématique: Les Végétaux vasculaires, par L. Emberger*; Masson et Cie, 1960.
- (17) Bechtel, A. R. The Floral Anatomy of the Urticales. *American journal of Botany* **1921**, *8* (8), 386–410.
- (18) Kubitzki, K. Cannabaceae. In *Flowering Plants · Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families*; Kubitzki, K., Rohwer, J. G., Bittrich, V., Eds.; The Families and Genera of Vascular Plants; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1993; pp 204–206. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-02899-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-3-662-02899-5_20).
- (19) Reille, M. *Dictionnaire visuel de botanique*; Ulmer-Verlag: Paris, 2014.

- (20) Howard, A. The Influence of Pollination on the Development of the Hop. *J. Agric. Sci.* **1905**, *1* (1), 49–58. <https://doi.org/10.1017/S002185960000149>.
- (21) Guerneur, C. Le Houblon: Botanique, Culture, Utilisations, Aspect Économique. PhD Thesis, 1986.
- (22) Stevens, J. F.; Page, J. E. Xanthohumol and Related Prenylflavonoids from Hops and Beer: To Your Good Health! *Phytochemistry* **2004**, *65* (10), 1317–1330. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.025>.
- (23) Tofana, M. COMPARATIVE STUDY OF THE HOP BITTER ACIDS ANALYSIS METHODS. *Hameiul si Plantele Medicinale* **2009**, *31* (1–2), 45–50.
- (24) Mérillon, J.-M.; Riviere, C. *Natural Antimicrobial Agents*; Springer, 2018.
- (25) Larson, A. E.; Yu, R. R. Y.; Lee, O. A.; Price, S.; Haas, G. J.; Johnson, E. A. Antimicrobial Activity of Hop Extracts against *Listeria Monocytogenes* in Media and in Food. *International Journal of Food Microbiology* **1996**, *33* (2), 195–207. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01155-5](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01155-5).
- (26) Hough, J. S.; Howard, G. A.; Slater, C. A. Bacteriostatic Activities of Hop Resin Materials. *Journal of the Institute of Brewing* **1957**, *63* (4), 331–333. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1957.tb06267.x>.
- (27) Schmalreck, A. F.; Teuber, M.; Reininger, W.; Hartl, A. Structural Features Determining the Antibiotic Potencies of Natural and Synthetic Hop Bitter Resins, Their Precursors and Derivatives. *Canadian Journal of Microbiology* **2011**. <https://doi.org/10.1139/m75-029>.
- (28) Neve, R. A. Fungal Diseases. In *Hops*; Neve, R. A., Ed.; Springer Netherlands: Dordrecht, 1991; pp 137–173. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-3106-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-011-3106-3_7).
- (29) Dodds, K. Hops - a Guide for New Growers. *NSW Department of Primary Industries*. 2017.
- (30) O'Neal, S. D.; Walsh, D. B.; Gent, D. H.; Barbour, J. D.; Boydston, R. A.; George, A. E.; James, D. G.; Serrine, J. R. Coordination, Copyediting, and Graphic Design. 112.
- (31) Schauenburg, P. R. de. *De la culture du houblon en France*; Huzard, 1836.
- (32) Rozier, F.; Marchand. *Cours complet d'agriculture... Par une Société d'Agriculteurs, & rédigé par M. l'Abbé Rozier...*; rue et hôtel Serpente [t. I-VIII], 1786.
- (33) Collin, E. Intérêt de La Multiplication Végétative Pour La Conservation Des Ressources Génétiques Des Ormes. *Ingénieries - E A T* **2001**, No. 25.
- (34) Zeyl, R. La culture du houblon en Alsace. *geo* **1930**, *39* (222), 569–578. <https://doi.org/10.3406/geo.1930.10291>.
- (35) Godin, B. Le Houblon et Sa Culture. *Itinéraires BIO*. 2017, pp 39–42.
- (36) Marceddu, R.; Carrubba, A.; Sarno, M. Cultivation Trials of Hop (*Humulus Lupulus* L.) in Semi-Arid Environments. *Heliyon* **2020**, *6* (10), e05114. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05114>.
- (37) Thomas, G. G.; Schwabe, W. W. Apical Morphology in the Hop (*Humulus Lupulus*) during Flower Initiation. *Annals of Botany* **1970**, *34* (4), 849–859.
- (38) Auger, P. *Encyclopédie Internationale Des Sciences et Techniques*, Groupe des Presses de la Cité.; 1969.
- (39) Lemmens, G. W. Ch. The Breeding and Parentage of Hop Varieties. *Brew. Dig.* **1998**, *73* (5), 16–26.
- (40) VIALA, P. *LES HYBRIDES-BOUSCHET: essai d'une monographie des vignes a jus rouge.*; HACHETTE LIVRE BNF: Place of publication not identified, 2016.
- (41) Kearns, C. A.; Inouye, D. W. *Techniques for Pollination Biologists*; University Press of Colorado: Niwot, Colo, 1993.
- (42) Shellie, R. A.; Poynter, S. D. H.; Li, J.; Gathercole, J. L.; Whittock, S. P.; Koutoulis, A. Varietal Characterization of Hop (*Humulus Lupulus* L.) by GC–MS Analysis of Hop



- Cone Extracts. *Journal of Separation Science* **2009**, *32* (21), 3720–3725. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900422>.
- (43) Brasseurs de France. Tout Savoir Sur Le Houblon, l'épice de La Bière. <http://brasseurs-de-france.com/wp-content/uploads/2016/09/DP-Houblon.pdf> (accessed 2018-06-14).
- (44) Barth, S. *Barthaas Report 2020*; Nuremberg, 2020.
- (45) *Explore Different Hops | Hopsteiner | Hop Profiles*. Hopsteiner. <https://www.hopsteiner.com/variety-data-sheets/> (accessed 2022-01-24).
- (46) Sutula, D. *Mild Ale: History, Brewing, Techniques, Recipes*; Brewers Publications, 2017.
- (47) Patzak, J. Evaluation of Genetic Variability of Wild Hops (*Humulus Lupulus* L.) in Canada and the Caucasus Region by Chemical and Molecular Methods. *Genome*. 2010, pp 545–557.
- (48) Patzak, J.; Hencychová, A. Evaluation of Genetic Variability within Actual Hop (*Humulus Lupulus* L.) Cultivars by an Enlarged Set of Molecular Markers. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* **2018**, *54* (2018) (No. 2), 86–91. <https://doi.org/10.17221/175/2016-CJGPB>.
- (49) Schauer, N.; Steinhäuser, D.; Strelkov, S.; Schomburg, D.; Allison, G.; Moritz, T.; Lundgren, K.; Roessner-Tunali, U.; Forbes, M. G.; Willmitzer, L.; Fernie, A. R.; Kopka, J. GC–MS Libraries for the Rapid Identification of Metabolites in Complex Biological Samples. *FEBS Letters* **2005**, *579* (6), 1332–1337. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.01.029>.
- (50) Kitson, F. G.; Larsen, B. S.; McEwen, C. N. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*; Academic Press: San Diego, Calif., 1996.
- (51) Nickerson, G. B.; Van Engel, L. Hop Aroma Component Profile and the Aroma Unit. *J. Am. Soc. Brew. Chem* **1992**, *50* (3), 77–81.
- (52) Salanță, L.-C.; Tofană, M.; Socaci, S.; Mudura, E.; Pop, C.; Pop, A.; Fărcaș, A. Determination of Volatiles in Hops from Romania by Solid Phase Fiber Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Letters* **2016**, *49* (4), 477–487.
- (53) Naya, Y.; Kotake, M. The Constituents of Hops (*Humulus Lupulus* L.). VII. The Rapid Analysis of Volatile Components. *BCSJ* **1972**, *45* (9), 2887–2891. <https://doi.org/10.1246/bcsj.45.2887>.
- (54) Nance, M. R.; Setzer, W. N. Volatile Components of Aroma Hops (*Humulus Lupulus* L.) Commonly Used in Beer Brewing. *Journal of Brewing and Distilling* **2011**, *2* (2), 16–22.
- (55) Howard, G. A.; Slater, C. A. EVALUATION OF HOPS VII. COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF HOPS. *Journal of the Institute of Brewing* **1957**, *63* (6), 491–506.
- (56) Katsiotis, S. T.; Langezaal, C. R.; Scheffer, J. J. C.; Verpoorte, R. Comparative Study of the Essential Oils from Hops of Various *Humulus Lupulus* L. Cultivars. *Flavour and Fragrance Journal* **1989**, *4* (4), 187–191. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730040407>.
- (57) Cerenak, A.; Pavlovic, M.; Luskar, M.; Kosir, I. *Characterization of Slovenian Hop (*Humulus Lupulus* L.) Varieties by Analysis of Essential Oil*; 2011; Vol. 18.
- (58) Kralj, D.; Zupanec, J.; Vasilj, D.; Kralj, S.; Pšeničnik, J. Variability of Essential Oils of Hops, *Humulus Lupulus* L. *Journal of the Institute of Brewing* **1991**, *97* (3), 197–206. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1991.tb01066.x>.
- (59) Li, M.; Liu, X.; Cai, H.; Shen, Z.; Xu, L.; Li, W.; Wu, L.; Duan, J.; Chen, Z. Validation and Application of an Ultra High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for Yuanhuacine Determination in Rat Plasma after Pulmonary

- Administration: Pharmacokinetic Evaluation of a New Drug Delivery System. *Molecules* **2016**, *21* (12), 1733. <https://doi.org/10.3390/molecules21121733>.
- (60) Matuszewski, B. K.; Constanzer, M. L.; Chavez-Eng, C. M. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC–MS/MS. *Anal. Chem.* **2003**, *75* (13), 3019–3030. <https://doi.org/10.1021/ac020361s>.
- (61) Dias, H.; Melo, N.; Crotti, A. E. Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry as a Tool for the Structural Elucidation and Dereplication of Natural Products: An Overview; 2012. <https://doi.org/10.5772/32680>.
- (62) Becker, S.; Kortz, L.; Helmschrodt, C.; Thiery, J.; Ceglarek, U. LC–MS-Based Metabolomics in the Clinical Laboratory. *Journal of Chromatography B* **2012**, *883–884*, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.10.018>.
- (63) Lu, W.; Bennett, B. D.; Rabinowitz, J. D. Analytical Strategies for LC–MS-Based Targeted Metabolomics. *Journal of Chromatography B* **2008**, *871* (2), 236–242. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.04.031>.
- (64) De Vos, R.; Moco, S.; Lommen, A.; Keurentjes, J.; Bino, R.; Hall, R. Untargeted Large-Scale Plant Metabolomics Using Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. *Nature protocols* **2007**, *2*, 778–791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.95>.
- (65) Rong, H.; Zhao, Y.; Lazou, K.; Keukeleire, D. D.; Milligan, S. R.; Sandra, P. Quantitation of 8-Prenylnaringenin, a Novel Phytoestrogen in Hops (<Emphasis Type="Italic">Humulus Lupulus</Emphasis> L.), Hop Products, and Beers, by Benchtop HPLC-MS Using Electrospray Ionization. *Chromatographia* **2000**, *51* (9–10), 545–552. <https://doi.org/10.1007/BF02490811>.
- (66) Baker, G. A.; Danenhowe, T. M.; Force, L. J.; Petersen, K. J.; Betts, T. A. HPLC Analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Acids in Hops. *Journal of Chemical Education* **2008**, *85* (7), 954. <https://doi.org/10.1021/ed085p954>.
- (67) Chapman, A. C. *The Hop and Its Constituents: A Monograph on the Hop Plant*; Read Books, 2007.
- (68) Nickerson, G. B.; Engel, L. V. Hop Aroma Component Profile and the Aroma Unit. **1987**, *5*.
- (69) Milligan, S.; Kalita, J.; Pocock, V.; Heyerick, A.; Cooman, L. D.; Rong, H.; Keukeleire, D. D. Oestrogenic Activity of the Hop Phyto-Oestrogen, 8-Prenylnaringenin. *Reproduction* **2002**, *123* (2), 235–242. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1230235>.
- (70) Omar, M. M. Phenolic Compounds in Botanical Extracts Used in Foods, Flavors, Cosmetics, and Pharmaceuticals. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I*; ACS Symposium Series; American Chemical Society, 1992; Vol. 506, pp 154–168. <https://doi.org/10.1021/bk-1992-0506.ch012>.
- (71) Fu, M.; Wang, W.; Chen, F.; Dong, Y.; Liu, X.; Ni, H.; Chen, Q. Production of 8-Prenylnaringenin from Isoxanthohumol through Biotransformation by Fungi Cells. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59* (13), 7419–7426. <https://doi.org/10.1021/jf2011722>.
- (72) Treutter, D. Significance of Flavonoids in Plant Resistance: A Review. *Environmental Chemistry Letters* **2006**, *4* (3), 147.
- (73) Dietz, B. M.; Kang, Y.-H.; Liu, G.; Eggler, A. L.; Yao, P.; Chadwick, L. R.; Pauli, G. F.; Farnsworth, N. R.; Mesecar, A. D.; van Breemen, R. B.; Bolton, J. L. Xanthohumol Isolated from *Humulus Lupulus* Inhibits Menadione-Induced DNA Damage through Induction of Quinone Reductase. *Chem. Res. Toxicol.* **2005**, *18* (8), 1296–1305. <https://doi.org/10.1021/tx050058x>.
- (74) Matoušek, J.; Kocábek, T.; Patzak, J.; Bříza, J.; Siglová, K.; Mishra, A. K.; Duraisamy, G. S.; Týcová, A.; Ono, E.; Krofta, K. The “Putative” Role of Transcription Factors

- from HIWRKY Family in the Regulation of the Final Steps of Prenylflavonoid and Bitter Acids Biosynthesis in Hop (*Humulus Lupulus* L.). *Plant molecular biology* **2016**, *92* (3), 263–277.
- (75) Schönberger, C.; Kostelecky, T. 125th Anniversary Review: The Role of Hops in Brewing. *Journal of the Institute of Brewing* **117** (3), 259–267. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00471.x>.
- (76) Laws, D. R. J.; Peppard, T. L.; Sharpe, F. R.; Pickett, J. A. Recent Developments in Imparting Hop Character to Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **1978**, *36* (2), 69–72. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-36-0069>.
- (77) Peppard, T. L. VOLATILE ORGANOSULPHUR COMPOUNDS IN HOPS AND HOP OILS: A REVIEW. *Journal of the Institute of Brewing* **1981**, *87* (6), 376–385. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1981.tb04054.x>.
- (78) Lermusieau, G.; Bulens, M.; Collin, S. Use of GC–Olfactometry to Identify the Hop Aromatic Compounds in Beer. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49* (8), 3867–3874. <https://doi.org/10.1021/jf0101509>.
- (79) Vermeulen, C.; Lejeune, I.; Tran, T. T. H.; Collin, S. Occurrence of Polyfunctional Thiols in Fresh Lager Beers. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (14), 5061–5068. <https://doi.org/10.1021/jf060669a>.
- (80) Kishimoto, T.; Kobayashi, M.; Yako, N.; Iida, A.; Wanikawa, A. Comparison of 4-Mercapto-4-Methylpentan-2-One Contents in Hop Cultivars from Different Growing Regions. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56* (3), 1051–1057. <https://doi.org/10.1021/jf072173e>.
- (81) Kishimoto, T. Hop-Derived Odorants Contributing to the Aroma Characteristics of Beer (ビールに特徴的な香りを付与するホップ由来香気成分). *JOURNAL OF THE BREWING SOCIETY OF JAPAN (日本醸造協会誌)* **2009**, *104*, 157–169. <https://doi.org/10.6013/jbrewsocjapan.104.157>.
- (82) Goese, M.; Kammhuber, K.; Bacher, A.; Zenk, M. H.; Eisenreich, W. Biosynthesis of Bitter Acids in Hops. *European Journal of Biochemistry* **1999**, *263* (2), 447–454. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00518.x>.
- (83) De Keukeleire, J.; Ooms, G.; Heyerick, A.; Roldan-Ruiz, I.; Van Bockstaele, E.; De Keukeleire, D. Formation and Accumulation of  $\alpha$ -Acids,  $\beta$ -Acids, Desmethylxanthohumol, and Xanthohumol during Flowering of Hops (*Humulus Lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51* (15), 4436–4441.
- (84) *Fabrication des bières.* <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/filiere-de-production-produits-d-origine-vegetale-42433210/fabrication-des-bieres-f6205/> (accessed 2018-06-14).
- (85) Verzele, M. 100 Years of Hop Chemistry and Its Relevance to Brewing. *Journal of the Institute of Brewing* **1986**, *92* (1), 32–48.
- (86) Farag, M. A.; Porzel, A.; Schmidt, J.; Wessjohann, L. A. Metabolite Profiling and Fingerprinting of Commercial Cultivars of *Humulus Lupulus* L. (Hop): A Comparison of MS and NMR Methods in Metabolomics. *Metabolomics* **2012**, *8* (3), 492–507. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0335-y>.
- (87) Stevenson, R. J.; Prescott, J.; Boakes, R. A. Confusing Tastes and Smells: How Odours Can Influence the Perception of Sweet and Sour Tastes. *Chem Senses* **1999**, *24* (6), 627–635. <https://doi.org/10.1093/chemse/24.6.627>.
- (88) Buck, L. B. Unraveling the Sense of Smell (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (38), 6128–6140. <https://doi.org/10.1002/anie.200501120>.
- (89) Lal, R.; Kimble, J. M.; Follett, R. F.; Stewart, B. A. *Soil Processes and the Carbon Cycle*; CRC Press, 1997.
- (90) Baize, D.; Jabiol, B. *Guide pour la description des sols*; Quae, 1995.

- (91) Sumner, M. E. Measurement of Soil PH: Problems and Solutions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **1994**, *25* (7–8), 859–879. <https://doi.org/10.1080/00103629409369085>.
- (92) Dodd, R. J.; Sharpely, A. N. Recognizing the Role of Soil Organic Phosphorus in Soil Fertility and Water Quality. *Resources, Conservation and Recycling* **2015**, *105*, 282–293. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.10.001>.
- (93) Turner, B.; Cademenun, B.; Condron, L.; Newman, S. Extraction of Soil Organic Phosphorus. *Talanta* **2005**, *66* (2), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.11.012>.
- (94) Giroux, M.; Audesse, P. Comparaison de Deux Méthodes de Détermination Des Teneurs En Carbone Organique, En Azote Total et Du Rapport C/N de Divers Amendements Organiques et Engrais de Ferme. *Agrosol* **2004**, *15* (2), 107–110.
- (95) Andrist Rangel, Y. Quantifying Mineral Sources of Potassium in Agricultural Soils. Doctoral thesis, 2008. <https://pub.epsilon.slu.se/1805/> (accessed 2020-02-21).
- (96) EBA, F.; ONDO, J. A.; EMANE MBA, S.; OLLUI-M'BOULOU, M.; OMVA-ZUE, J. Taux de Manganèse Accumulé Dans Quelques Plantes Vivrières Cultivées Dans La Région Manganésifère de Moanda (Gabon). *J. Soc. ouest-afr. chim* **2007**, No. 23, 69–74.
- (97) Serrat, F. B. 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine for the Colorimetric Determination of Manganese in Water. *Mikrochim Acta* **1998**, *129* (1), 77–80. <https://doi.org/10.1007/BF01246852>.
- (98) Haunold, A.; Zimmermann, C. E. Pollen Collection, Crossing, and Seed Germination of Hop 1. *Crop Science* **1974**, *14* (5), 774–776. <https://doi.org/10.2135/cropsci1974.0011183X001400050051x>.
- (99) Liberatore, C. M.; Mattion, G.; Rodolfi, M.; Ganino, T.; Fabbri, A.; Chiancone, B. Chemical and Physical Pre-Treatments to Improve in Vitro Seed Germination of *Humulus Lupulus* L., Cv. Columbus. *Scientia Horticulturae* **2018**, *235*, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.077>.
- (100) Smith, D. Influence of Moisture and Temperature on the Germination of Hop Seeds. *J. Agric. Res* **1939**, *58* (5), 369–382.
- (101) Cavieres, L. A.; Arroyo, M. T. K. Seed Germination Response to Cold Stratification Period and Thermal Regime in *Phacelia Secunda* (Hydrophyllaceae) – Altitudinal Variation in the Mediterranean Andes of Central Chile. *Plant Ecology* **2000**, *149* (1), 1–8. <https://doi.org/10.1023/A:1009802806674>.
- (102) Dehgan, B.; Johnson, C. R. Improved Seed Germination of *Zamia Floridana* (Sensu Lato) with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and GA<sub>3</sub>. *Scientia Horticulturae* **1983**, *19* (3), 357–361. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(83\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-4238(83)90084-5).
- (103) Bénévent, E. La pluviosité de la Corse. *Revue de Géographie Alpine* **1914**, *2* (2), 239–264. <https://doi.org/10.3406/rga.1914.4811>.
- (104) *Météo* *Corte*. [https://www.meteoblue.com/fr/meteo/semaine/corte\\_france\\_3023506](https://www.meteoblue.com/fr/meteo/semaine/corte_france_3023506) (accessed 2021-04-13).
- (105) *Les données climatiques pour les villes du monde entier - Climate-Data.org*. <https://fr.climate-data.org/> (accessed 2021-04-13).
- (106) Weihrauch, F. A New Monitoring Approach for the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus Urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in Hop Culture. *J Plant Dis Prot* **2004**, *111* (2), 197–205. <https://doi.org/10.1007/BF03356147>.
- (107) Yang, Y.; Luo, X.; Wei, W.; Fan, Z.; Huang, T.; Pan, X. Analysis of Leaf Morphology, Secondary Metabolites and Proteins Related to the Resistance to *Tetranychus*

- Cinnabarinus in Cassava ( *Manihot Esculenta* Crantz). *Scientific Reports* **2020**, *10* (1), 14197. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70509-w>.
- (108) Akula, R.; Ravishankar, G. A. Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants. *Plant Signaling & Behavior* **2011**, *6* (11), 1720–1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>.
- (109) Poljakoff-Mayber, A. Morphological and Anatomical Changes in Plants as a Response to Salinity Stress. In *Plants in Saline Environments*; Poljakoff-Mayber, A., Gale, J., Eds.; Ecological Studies; Springer: Berlin, Heidelberg, 1975; pp 97–117. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-80929-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-642-80929-3_8).
- (110) Lisar, S. Y.; Motafakkerazad, R.; Hossain, M.; M M Rahman, I. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses; 2012; pp 1–14. <https://doi.org/10.5772/39363>.
- (111) Kralj, D.; Zupanec, J.; Vasilj, D.; Kralj, S.; Pšeničnik, J. Variability of Essential Oils of Hops, *Humulus Lupulus* L. *Journal of the Institute of Brewing* **1991**, *97* (3), 197–206. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1991.tb01066.x>.
- (112) Joulain, D.; König, W. A. *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*; E.B.-Verlag: Hamburg, 1998.
- (113) Katsiotis, S. T.; Langezaal, C. R.; Scheffer, J. J. C. Composition of the Essential Oils from Leaves of Various *Humulus Lupulus* L. Cultivars. *Flavour and Fragrance Journal* **1990**, *5* (2), 97–100. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730050208>.
- (114) Stanius, Ž.; Dūdėnas, M.; Kaškonienė, V.; Stankevičius, M.; Skrzydlewska, E.; Drevinskas, T.; Ragažinskienė, O.; Obelevičius, K.; Maruška, A. Analysis of the Leaves and Cones of Lithuanian Hops (*Humulus Lupulus* L.) Varieties by Chromatographic and Spectrophotometric Methods. *Molecules* **2022**, *27* (9), 2705. <https://doi.org/10.3390/molecules27092705>.
- (115) Krofta, K.; Poustka, J.; Nováková, K.; Hajšlová, J. CONTENTS OF PRENYLFLAVONOIDS IN CZECH HOPS AND BEERS. *Acta Hort.* **2005**, No. 668, 201–206. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.668.25>.
- (116) De Keukeleire, J.; Janssens, I.; Heyerick, A.; Ghekiere, G.; Cambie, J.; Roldán-Ruiz, I.; Van Bockstaele, E.; De Keukeleire, D. Relevance of Organic Farming and Effect of Climatological Conditions on the Formation of  $\alpha$ -Acids,  $\beta$ -Acids, Desmethylxanthohumol, and Xanthohumol in Hop ( *Humulus Lupulus* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55* (1), 61–66. <https://doi.org/10.1021/jf061647r>.
- (117) Bakha, M.; Gibernau, M.; Tomi, F.; Machon, N.; Khiraoui, A.; Aboukhalid, K.; El Mtili, N.; Al Faiz, C. Chemical Diversity of Essential Oil of the Moroccan Endemic *Origanum Grosii* in Natural Populations and after Transplantation. *South African Journal of Botany* **2019**, *124*, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.014>.
- (118) Nothias-Scaglia, L.-F.; Esposito, M.; Costa, J.; Paolini, J.; Touboul, D.; Litaudon, M. Les Réseaux Moléculaires, Une Approche Bio-Informatique Globale Pour Interpréter Les Données de Spectrométrie de Masse Tandem. *Spectra Analyse* **2015**, *307*, 73–78.
- (119) Nothias, L.-F.; Nothias-Esposito, M.; Da Silva, R.; Wang, M.; Protsyuk, I.; Zhang, Z.; Sarvepalli, A.; Leyssen, P.; Touboul, D.; Costa, J. Bioactivity-Based Molecular Networking for the Discovery of Drug Leads in Natural Product Bioassay-Guided Fractionation. *Journal of natural products* **2018**, *81* (4), 758–767.
- (120) Zhang, X.; Liang, X.; Xiao, H.; Xu, Q. Direct Characterization of Bitter Acids in a Crude Hop Extract by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **2004**, *15* (2), 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2003.09.014>.
- (121) Wang, M.; Carver, J. J.; Phelan, V. V.; Sanchez, L. M.; Garg, N.; Peng, Y.; Nguyen, D. D.; Watrous, J.; Kaponov, C. A.; Luzzatto-Knaan, T. Sharing and Community Curation

- of Mass Spectrometry Data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature biotechnology* **2016**, *34* (8), 828–837.
- (122) Patzak, J.; Nesvadba, V.; Henychová, A.; Krofta, K. Assessment of the Genetic Diversity of Wild Hops (*Humulus Lupulus* L.) in Europe Using Chemical and Molecular Analyses. *Biochemical Systematics and Ecology* **2010**, *38* (2), 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.12.023>.
- (123) Rodolfi, M.; Silvanini, A.; Chiancone, B.; Marieschi, M.; Fabbri, A.; Bruni, R.; Ganino, T. Identification and Genetic Structure of Wild Italian *Humulus Lupulus* L. and Comparison with European and American Hop Cultivars Using Nuclear Microsatellite Markers. *Genet Resour Crop Evol* **2018**, *65* (5), 1405–1422. <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0622-9>.
- (124) Mongelli, A.; Rodolfi, M.; Ganino, T.; Marieschi, M.; Dall’Asta, C.; Bruni, R. Italian Hop Germplasm: Characterization of Wild *Humulus Lupulus* L. Genotypes from Northern Italy by Means of Phytochemical, Morphological Traits and Multivariate Data Analysis. *Industrial Crops and Products* **2015**, *70*, 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.036>.
- (125) Murakami, A.; Darby, P.; Javornik, B.; Pais, M.; Seigner, E.; Lutz, A.; Svoboda, P. Microsatellite DNA Analysis of Wild Hops, *Humulus Lupulus* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* **2006**, *53*, 1553–1562. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-7765-1>.
- (126) Jakse, J.; Šatović, Z.; Javornik, B. Microsatellite Variability among Wild and Cultivated Hops (*Humulus Lupulus* L.). *Genome / National Research Council Canada = Génome / Conseil national de recherches Canada* **2004**, *47*, 889–899. <https://doi.org/10.1139/g04-054>.
- (127) Ganino, T.; Bartolini, G.; Fabbri, A. The Classification of Olive Germplasm. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* **2006**, *81* (3), 319–334. <https://doi.org/10.1080/14620316.2006.11512069>.
- (128) Ganino, T. Genetic Resources of *Olea Europaea* L. in the Bologna Province (Italy): SSR Analysis and Identification of Local Germplasm. *Genetic Resources of *Olea europaea* L. in the Bologna Province (Italy)* **2008**, 1000–1007. <https://doi.org/10.1400/94390>.
- (129) Patzak, J. P.; Vrba, L. V.; Matoušek, J. M. New STS Molecular Markers for Assessment of Genetic Diversity and DNA Fingerprinting in Hop (*Humulus Lupulus* L.). *Genome* **2007**. <https://doi.org/10.1139/g06-128>.
- (130) Jeleń, H. H.; Wlazły, K.; Wąsowicz, E.; Kamiński, E. Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Some Alcohols and Esters in Beer: Comparison with Static Headspace Method. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46* (4), 1469–1473. <https://doi.org/10.1021/jf9707290>.
- (131) Kobayashi, M.; Shimizu, H.; Shioya, S. Beer Volatile Compounds and Their Application to Low-Malt Beer Fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2008**, *106* (4), 317–323. <https://doi.org/10.1263/jbb.106.317>.
- (132) Bianchini, A.; Tomi, P.; Costa, J.; Bernardini, A. F. Composition of *Helichrysum Italicum* (Roth) G. Don Fil. Subsp. *Italicum* Essential Oils from Corsica (France). *Flavour and Fragrance Journal* **2001**, *16* (1), 30–34. [https://doi.org/10.1002/1099-1026\(200101/02\)16:1<30::AID-FFJ941>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1099-1026(200101/02)16:1<30::AID-FFJ941>3.0.CO;2-F).
- (133) Tsuji, H.; Mizuno, A. Volatile Compounds and the Changes in Their Concentration Levels during Storage in Beers Containing Varying Malt Concentrations. *Journal of Food Science* **2010**, *75* (1), C79–C84. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01428.x>.
- (134) Janish, S. Dry Hop Best Practices: Using Science as a Guide for Process and Recipe Development. 8.

- (135) Fancy a 13,000-Year-Old Beer, Anyone? September 15, 2018. <https://www.bbc.com/news/world-middle-east-45534133> (accessed 2019-07-17).
- (136) Damerow, P. Sumerian Beer: The Origins of Brewing Technology in Ancient Mesopotamia. *Cuneiform Digital Library Journal*. 2012. [https://cdli.ucla.edu/pubs/cdlj/2012/cdlj2012\\_002.html](https://cdli.ucla.edu/pubs/cdlj/2012/cdlj2012_002.html) (accessed 2019-07-17).
- (137) Hornsey, I. S. *A History of Beer and Brewing*; RSC paperbacks; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2003.
- (138) Gaab, J. S. *Munich: Hofbräuhaus & History; Beer, Culture, & Politics*; Lang: New York, NY, 2006.
- (139) Grasser, J.-P. Les Juifs et Le Commerce Du Houblon à Haguenau Aux XIXe et XXe Siècles. *Etudes haguenaubiennes*; 1992; Vol. XVIII.
- (140) Castelot, A. *L'histoire à table: Si la cuisine m'était contée...*; FeniXX, 1979.
- (141) Meussdoerffer, F. G. A Comprehensive History of Beer Brewing. In *Handbook of Brewing*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 1–42. <https://doi.org/10.1002/9783527623488.ch1>.
- (142) Darby, P. What Makes British Hops Unique in the World of Hop Growing ?; 2014.
- (143) De Keukeleire, D. Fundamentals of Beer and Hop Chemistry. *Química Nova* **2000**, 23 (1), 108–112. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000100019>.
- (144) Hieronymus, S. *For the Love of Hops: The Practical Guide to Aroma, Bitterness, and the Culture of Hops*; Brewers Publications, a division of the Brewers Association: Boulder, Colorado, 2012.
- (145) Fink, H. The Gastronomic Value of Odours. *New-York Times*. November 1886.
- (146) Shepherd, G. M. *Neurogastronomy: How the Brain Creates Flavor and Why It Matters*; Columbia University Press: New York, 2012.
- (147) Smith, R. Dry Hopping and Its Effects on the International Bitterness Unit Test and Beer Bitterness. *Technical quarterly*. Master brewers association of the Americas. 2016.
- (148) India pale ale, l'amer à boire. *Le Monde.fr*. June 27, 2018. [https://www.lemonde.fr/m-gastronomie/article/2018/06/27/india-pale-ale-l-amer-a-boire\\_5322171\\_4497540.html](https://www.lemonde.fr/m-gastronomie/article/2018/06/27/india-pale-ale-l-amer-a-boire_5322171_4497540.html) (accessed 2019-07-18).
- (149) Steele, M. *IPA: Brewing Techniques, Recipes, and the Evolution of India Pale Ale*; Brewers Publications: Boulder, Colo, 2012.
- (150) *Région de Corse*; INSEE, 2020. <https://www.insee.fr/fr/statistiques/2011101?geo=REG-94#chiffre-cle-9>.
- (151) Battesti, M.-J. Contribution à La Méliissopalynologie Méditerranéenne : Les Miels Corses. These de doctorat, Aix-Marseille 3, 1990. <http://www.theses.fr/1990AIX30016> (accessed 2020-08-18).
- (152) Yang, Y. Qualification Des Miels de Corse Par Une Approche Multifactorielle : Diversité Pollinique & Variabilité Chimique. These de doctorat, Corte, 2014. <http://www.theses.fr/2014CORT0009> (accessed 2020-08-18).
- (153) INAO. Les Organismes de Défense et de Gestion, 2019.
- (154) *Panorama Des Industries Agroalimentaires*; Fiche régionale corse; Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, 2016.
- (155) *Le Secteur de l'industrie Agroalimentaire En Corse*; Les dossiers de l'économie corse; 11; INSEE, 2012.
- (156) Chambre de Commerce et d'Industrie de Haute-Corse. Les Brasseries de Corse, 2020. <http://www.ccihc.fr>.
- (157) Jaeger, C. *Artisanat et capitalisme: L'envers de la roue de l'histoire*; FeniXX, 1982.
- (158) Roux, S. L. L'artisanat est-il l'avenir du système industriel ? Vers une théorie de l'artisanation de la révolution informationnelle. *Marche et organisations* **2006**, N° 1 (1), 55–71.

- (159) L'ADN. Prospection: Tendances Alimentaires Futures ? *L'ADN*. February 5, 2018.
- (160) Baldovini, N.; Ristorcelli, D.; Tomi, F.; Casanova, J. Intraspecific Variability of the Essential Oil Of *Calamintha Nepeta* from Corsica (France). *Flavour and Fragrance Journal* **2000**, *15* (1), 50–54. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(200001/02\)15:1<50::AID-FFJ871>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(200001/02)15:1<50::AID-FFJ871>3.0.CO;2-F).
- (161) Christensson, J. B.; Andersen, K. E.; Bruze, M.; Johansen, J. D.; Garcia-Bravo, B.; Giménez-Arnau, A.; Goh, C.-L.; Nixon, R.; White, I. R. An International Multicentre Study on the Allergenic Activity of Air-Oxidized R-Limonene. *Contact Dermatitis* **2013**, *68* (4), 214–223. <https://doi.org/10.1111/cod.12036>.
- (162) *Covid-19*; Bank of International Settlements, 2020.
- (163) *Google Community Mobility Reports*; Google Community, 2020.
- (164) Frydman, A. Destination Brasseries : Le Tour de France Des Brasseurs Indépendants. *Le Point*. July 28, 2020.
- (165) Adams, R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. *Carol Stream* **2005**, *16*, 65–120.
- (166) Babushok, V. I.; Linstrom, P. J.; Zenkevich, I. G. Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **2011**, *40* (4), 043101. <https://doi.org/10.1063/1.3653552>.
- (167) Tissot, E.; Rochat, S.; Debonneville, C.; Chaintreau, A. Rapid GC-FID Quantification Technique without Authentic Samples Using Predicted Response Factors. *Flavour and Fragrance Journal* **2012**, *27* (4), 290–296. <https://doi.org/10.1002/ffj.3098>.
- (168) Doyle, J. J.; Doyle, J. L. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin* **1987**, *19* (1), 11–15.
- (169) Stajner, N.; Jakse, J.; Kozjak, P.; Javornik, B. The Isolation and Characterisation of Microsatellites in Hop (*Humulus Lupulus* L.). *Plant Science* **2005**, *168* (1), 213–221. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.031>.



# RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail de Thèse, à travers une étude morphologique et phytochimique, était de déterminer les caractéristiques brassicoles des houblons poussant spontanément en Corse. Dans cette optique, une stratégie d'échantillonnage, l'étude de la composition chimique, la construction de la première houblonnière de Corse et le renforcement génétique des plants spontanés par hybridation manuelle ont été mis en œuvre en vue de la compréhension de la typicité des houblons insulaires et de l'impact de la mise en culture du terroir corse sur ces différents aspects. Les analyses morphologiques ont démontré (i) une forte influence de la proximité marine de même qu'un impact environnemental et pédoclimatique conséquent sur le polymorphisme du houblon, (ii) un important potentiel d'acclimatation des cultivars étrangers au terroir de Corse. Les analyses phytochimiques par les techniques chromatographiques en phase gazeuse (CPG-SM), d'une part et en phase liquide (CL-SM/SM), d'autre part, ont montré (i) une diversité géographique des huiles essentielles des houblons spontanés et leur typicité régionale par l'abondance du zingibérène aux arômes recherchés dans le monde brassicole, (ii) l'influence des variations climatiques interannuelles sur les fractions lourdes du houblon, (iii) une acclimatation rapide des cultivars étrangers transplantés en Corse, (iv) une influence positive de la mise en culture des houblons spontanés sur leurs teneurs en  $\alpha$ - $\beta$ -acides et en flavonoïdes, ainsi que (v) une voie de valorisation organoleptique envisageable pour les feuilles et les tiges du végétal, considérées, jusqu'à présent, comme des « déchets de brassage ». Une analyse métabolomique des cônes de houblon a permis l'identification de trente-quatre composés par la méthode innovante dite des « réseaux moléculaires », dont huit encore jamais décrits dans le houblon et un jamais décrit dans la littérature. En ouverture à ce travail, la caractérisation génétique de la biodiversité des houblons a mis en lumière l'origine probable des accessions corses.

Mots clés : *Humulus lupulus* ; CPG-SM ; CL-SM/SM ; Morphologie ; SSR.

# ABSTRACT

The aim of this work was to determine the brewing potential of *Humulus lupulus* growing spontaneously in Corsica through a morphological and phytochemical study. Initially, a sampling strategy, the construction of the first hop farm in Corsica and the genetic reinforcement of spontaneous plants by manual hybridization were implemented to highlight the typicality of the Corsican hops and the impact of Corsican *terroir* on these different aspects. Morphological analyzes demonstrated (i) a strong influence of sea proximity as well as a significant environmental and pedoclimatic impact on hop polymorphism, (ii) and a significant potential for acclimatization of foreign cultivars to Corsica. Phytochemical analyzes by gas chromatographic (GC-SM) and liquid chromatography (LC-SM/SM) techniques showed (i) a geographic diversity of spontaneous hop essential oils and their regional specificity due to the abundance of zingiberene, (ii) the influence of interannual climatic variations on the heavy compounds of hops, (iii) a quick acclimatization of foreign cultivars transplanted to Corsica, (iv) a positive influence of the cultivation of spontaneous hops on their  $\alpha$ -/ $\beta$ -acid and flavonoid contents, as well as (v) a possible organoleptic enhancement route for the leaves and stems of the plant, considered as “brewing waste”. A metabolomic analysis of hops identified thirty-four compounds by molecular networks, including eight compounds that had never been described in hops before and one that has never been described in literature. In perspective, the genetic characterization of hop biodiversity has shed light on the probable origin of the Corsican accessions.

Key words: *Humulus lupulus*; GC-MS; LC-MS/MS; Morphological analysis; SSR.

## RIASSUNTU

U scopu di issu travaddu di tesa, frà una studia murfulugica è fitochimica, era di ditirminà e caratteristiche brassicole di luppuli criscendu spuntaneamentu in Corsica.

Pà questu, una strategia di campunariu, a studia di a cumposizione chimica, a custruzione di u primu luppulaghju di Corsica è l'invigurimentu geneticu di piantine spuntanee frà ibridazione manuale sò stati cullucati pà aiutà a capiscitura di a tipicità di luppuli isulani è di l'impattu di u modu di cultura di i rughjoni corsi annatu à isse caratteristiche. L'analise murfologiche ani dimustratu (i) un'influenza impurtanta di a vicinanza à u mare altrettante à un impattu ambientale è pedoclimaticu cunsequente sopra u polymorfismu di u luppulu, (ii) un potenziale d'acclimatazione impurtante di cultivari stranieri à i rughjoni di Corsica. L'analise fitochimiche frà tecniche crumatografiche in fasa gasosa (CPG-SM), d'una parte è in fasa liquida (CL-SM/SM) d'un'altra, ani mustratu (i) una diversità geugraffica di l'olii essenziali di luppuli spuntanee è a so tipicità locale trà l'abundenza di u zingiberene cù aromi ricercati in u mondu brassicolu, (ii) l'influenza di variazione climatiche interannuale annatu à e frazzione pisive di luppulu, (iii) una acclimatazione pronta di cultivari stranieri trapiantati in Corsica, (iv) un'influenza pusitiva di a mesa in coltivazione di luppuli spuntanee annatu à u cuntinutu in  $\alpha$ - $\beta$ -acidi è flavonoidii, cum'è (v) una via di valurizzazione organoleptica pussibile pà foglie è steguli di a pianta, sin'à oghji visti cum'è "frazzi di brassaghju". Un'analisa metabulomica di conu di luppulu ani pirmissu l'identificazione di trenta-quatru mulecule cù a metoda innuvanta detta di "rete muleculare", frà quale ottu mai stati discritti in u luppulu, è una mai discritta in a literatura. Dopu à issu travaddu, a caratterizzazione genetica di a biudiversità di luppuli a messu in lume l'urighjine prubabile di l'accissioni corsi.