

Université Bordeaux Segalen

Année 2012

Thèse n°1986

THESE

pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX II

Mention : Sciences, Technologie, Santé

Option : Œnologie

Présentée et soutenue publiquement le 20 décembre 2012 par

Georgia LYTRA

Née le 20 mars 1981 en Grèce

**IMPORTANCE DES INTERACTIONS PERCEPTIVES DANS
L'EXPRESSION DE L'AROME FRUITE TYPIQUE DES VINS ROUGES**

Membres du Jury

M. A. RAZUNGLES	Professeur, Montpellier SUPAGRO	Président
M. J.-L. LE QUERE	Ingénieur de Recherche, INRA de Dijon	Rapporteur
M. Y. KOTSERIDIS	Professeur Assistant, Université d'Agriculture d'Athènes	Rapporteur
M. G. DE REVEL	Professeur, Faculté d'Œnologie de Bordeaux	Examineur
M. J.-C. BARBE	Maître de Conférences, BORDEAUX SCIENCES AGRO	Directeur de Thèse

" μ "

A ma famille

Ce travail a été réalisé au sein de l'équipe de la Faculté d'Œnologie de Bordeaux, sous la direction de Monsieur Jean-Christophe Barbe, Maître de Conférences de Bordeaux Sciences Agro. Je tiens par ces quelques mots à le remercier profondément de m'avoir accueillie dans son équipe et de m'avoir offert l'opportunité d'effectuer cette thèse. Sa confiance et ses encouragements ont été déterminants dans l'accomplissement de ce travail ainsi que dans l'enthousiasme qui a guidé ces recherches. Je tiens à lui exprimer tous mes remerciements les plus sincères et ma profonde admiration face à ces multiples connaissances scientifiques. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur Gilles de Revel, Professeur et Doyen de la Faculté d'Œnologie de Bordeaux m'a permis de réaliser ce travail en m'acceptant au sein de l'équipe de chimie analytique de la Faculté d'Œnologie. Merci pour ses précieux conseils scientifiques et techniques, ainsi que pour ses encouragements. De plus, il m'a fait l'honneur d'accepter l'invitation de faire partie des membres du jury de cette thèse. Pour tout cela, je lui exprime ma plus grande gratitude.

Messieurs Jean-Luc Le Quéré, Ingénieur de Recherche à l'INRA de Dijon, et Yorgos Kotseridis, Professeur Assistant à l'Université d'Agriculture d'Athènes, ont accepté d'évaluer ce travail et d'en être les rapporteurs. J'en suis très honorée et les remercie vivement. Monsieur Alain Razungles, Professeur à l'école SUPAGRO de Montpellier, a accepté la charge de présidence de cette thèse. L'intérêt et la patience que vous avez portée à l'examen de ce travail ont permis une discussion très enrichissante. Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Ses expertises dans les domaines respectifs des arômes du vin et de l'analyse sensorielle me seront précieuses pour la poursuite de ce travail.

Merci à Monsieur Philippe Darriet, Professeur et Directeur de l'Unité de Recherche Œnologie de m'avoir accueillie dans son laboratoire dans lequel j'ai effectué mon master ainsi que la première année de ma thèse. Je le remercie de m'avoir permis de mener à bien ce travail dans de bonnes conditions matérielles.

Ce travail de recherche a été soutenu financièrement par le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux et Bordeaux Sciences Agro, auxquels j'exprime toute ma reconnaissance. Je tiens également à remercier les responsables du Château Luchey-Halde, ainsi que Maria de Lourdes Martinez Ojeda du Château Brane-Cantenac qui ont participé à ce travail en fournissant des échantillons.

Mes mots ne seront pas assez forts pour témoigner de ma profonde reconnaissance et de mon amitié à Sophie Tempère. *Fofix*, ton soutien scientifique, technique et moral ont été déterminants dans ce travail! Tes suggestions se sont toujours révélées particulièrement pertinentes et ont grandement contribué à l'obtention des résultats majeurs de cette thèse. Je t'exprime mes plus sincères et mes plus chaleureux remerciements et ma profonde reconnaissance pour les conseils que tu m'as prodigués.

La recherche étant avant tout un travail d'équipe, je tiens à remercier toutes les personnes de l'équipe du laboratoire de chimie analytique de la Faculté d'Œnologie de Bordeaux. J'ai adoré travailler avec vous. Je remercie plus particulièrement Marie-Claire Perelló et Laurent Riquier pour tous les échanges techniques, scientifiques et pour leur sympathie, leur accueil chaleureux pendant cette thèse.

Je souhaite encore remercier Philippe Friant et Monique Pons pour leur disponibilité au cours de la première année de ma thèse et mon master.

Je remercie Alexandra Le Floch qui, au cours de son stage, a contribué à l'avancement des travaux, ainsi que l'ensemble des participants aux différents panels d'analyse sensorielle.

Je tiens enfin à exprimer toute mon amitié aux membres du laboratoire et tout particulièrement à Davidé, Isabelle, Julien, Armin, Grégory P, Maria, Sophie A, Kentaro, Gregory S, Katharina, Maxime, Nerea, Naim, Natka, Reyes, Marion, Andrea, Fabrice et Arnaud. Un grand merci à vous tous pour ces années de bonne humeur et de soutien au quotidien!

Mes remerciements vont aussi aux personnels administratifs de la Faculté d'Œnologie et plus particulièrement à Manu et Patrick ainsi qu'à Elodie pour leur disponibilité, leur patience, leur aide et leur bonne humeur.

PUBLICATIONS INTERNATIONALES ISSUES DES TRAVAUX DE THÈSE

Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. Impact of Perceptive Interactions on Red Wine Fruity Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2012**, *60*, 12260–12269.

Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. Distribution and Organoleptic Impact of Ethyl 2-Hydroxy-4-methylpentanoate Enantiomers in Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2012**, *60*, 1503–1509.

Falcao, L. D.; **Lytra, G.;** Darriet, P.; Barbe, J.-C. Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. *Food Chemistry*. **2012**, *132*, 230–236.

COMMUNICATIONS AU COURS DE CONGRES INTERNATIONAUX

Communications Orales

Lytra, G.; Tempere, S.; de Revel, G.; Barbe, J.-C. Ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate, a natural fruity aromas enhancer of red wines. **Macrowine (Macrovision of viticulture, wine making and markets), Bordeaux, France, June 18-21, 2012.**

Lytra, G.; Darriet, P.; Barbe, J.-C. Impact of perceptive interactions on wine typical fruity aroma. **Flash - oral presentation. XIII Weurman Flavour Research Symposium, Zaragoza, Spain, September 27-30, 2011.**

Lytra, G.; Darriet, P.; Barbe, J.-C. Role of perceptive interactions on wine typical fruity aroma. **9ème Symposium International d'Œnologie de Bordeaux, France, Juin 15-17, 2011.**

Communications Affichées

Falcao, L.; Darriet, P.; Lytra, G.; Barbe, J.-C. Study of black berry-fruits, a way to understand red wines fruity aroma? **9ème Symposium International d'Œnologie de Bordeaux, France, Juin 15-17, 2011.**

Lytra, G.; Darriet, P.; Barbe, J.-C. Perceptive interactions and wine typical fruity aroma. **International Conference on the Wine Active Compounds, Beaune, France, March 24-26, 2011.**

Lytra, G.; Darriet, P.; Barbe, J.-C. Perceptive interactions and wine typical fruity aroma. **III International Congress, Macrowine, Torino, Italy, June 16-18, 2010.**

LISTE DES ABREVIATIONS	I
LISTE DES TABLEAUX.....	IV
LISTE DES FIGURES	VI
INTRODUCTION.....	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. LA PERCEPTION OLFACTIVE : DE LA PHYSIOLOGIE A L'ANALYSE SENSORIELLE.....	5
1.1 PHYSIOLOGIE DE LA PERCEPTION DES ODEURS : LE SYSTEME OLFACTIF	5
1.1.1 La muqueuse olfactive.....	6
1.1.2 Bulbe olfactif.....	8
1.1.3 Projections des afférences olfactives dans le système nerveux	8
1.2 LA PERCEPTION DES ODEURS.....	10
1.2.1 La perception quantitative de l'odeur	11
1.2.2 La perception qualitative de l'odeur.....	12
1.2.3 La perception hédonique de l'odeur.....	13
1.3 METHODOLOGIE DE L'ANALYSE SENSORIELLE.....	13
1.3.1 Les épreuves d'analyse sensorielle	14
1.3.2 Facteurs conditionnant les résultats d'une analyse sensorielle	16
2. ETUDE DES MELANGES D'ODEURS.....	19
2.1 CLASSIFICATION DES MELANGES BINAIRES	19
2.1.1 Changements qualitatifs	19
2.1.2 Changements quantitatifs	20

2.2 ELEMENTS DE MODELISATION DES CARACTERISTIQUES OLFACTIVES DES MELANGES	23
2.3 EXEMPLES D'INTERACTIONS PERCEPTIVES	26
2.3.1 Effets qualitatifs	26
2.3.2 Effets quantitatifs	28
2.4 SIEGE DES INTERACTIONS PERCEPTIVES	30
3. L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES	31
3.1 SPECIFICITE ET REALITE SENSORIELLE	31
3.2 COMPOSES SUSCEPTIBLES D'INTERVENIR DANS L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES	32
3.2.1 Les esters	32
3.2.2 Les furanones : Furanéol[®] et Homofuranéol[®]	38
3.2.3 Les norisoprénoïdes à 13 atomes de carbone	39
3.2.4 Les lactones	40
3.2.5 Les terpénols	40
3.2.6 Les composés soufrés	41
II. MATERIELS ET METHODES	43
1. REALISATION DES RECONSTITUTIONS AROMATIQUES	44
1.1 L'ORIGINE DE L'ODEUR	44
1.1.1 Fractions obtenues par CLHP	44
1.1.2 Composés de référence	45
1.2 MISE EN ŒUVRE DES RECONSTITUTIONS AROMATIQUES DANS DIFFERENTES MATRICES	45
2. ANALYSE SENSORIELLE	46
2.1 CONDITIONS ET PARAMETRES GENERAUX	46

2.1.1 Panel	46
2.1.2 Environnement	47
2.1.3 Verres	48
2.2 LES EPREUVES SENSORIELLES ET L'INTERPRETATION STATISTIQUE DE LEURS RESULTATS	48
2.2.1 Epreuves discriminatives	48
2.2.2 Epreuves descriptives	55
3. ANALYSES INSTRUMENTALES	61
3.1 TECHNIQUES D'IDENTIFICATION	61
3.1.1 Préparation préalable de l'échantillon	61
3.1.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)	61
3.1.3 Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie	62
3.2 DETERMINATIONS CHIMIQUES	62
3.2.1 Dosages par chromatographie en phase gazeuse (GC)	62
3.2.2 Dosage de l'acide acétique par méthode enzymatique	66
III. MISE EN EVIDENCE D'INTERACTIONS PERCEPTIVES REMARQUABLES A PARTIR DE FRACTIONS CLHP	67
1. DESCRIPTION OLFACTIVE DES VINS ET DES FRACTIONS CORRESPONDANTES OBTENUES PAR CLHP	68
2. ANALYSES PRELIMINAIRES	72
2.1 COMPOSITION EN ESTERS DES FRACTIONS FRUITEES	72
2.2 SELECTION DES FRACTIONS	74
3. CARACTERISATION D'INTERACTIONS PERCEPTIVES	75
3.1 MISE EN EVIDENCE	75
3.2 DESCRIPTION	77

IV. ETUDE D'UN EFFET EXHAUSTEUR SUR LE CARACTERE FRUITE	83
1. ORIGINE DE L'EFFET EXHAUSTEUR.....	84
1.1 IDENTIFICATION DU 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE	84
1.2 QUANTIFICATION DES ENANTIOMERES DU 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE	88
1.3 IMPORTANCE DU 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE DANS L'EFFET EXHAUSTEUR	88
2. LE 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE ET L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES.....	92
2.1 DISTRIBUTION ENANTIOMERIQUE ET TENEURS DANS LES VINS	92
2.2 IMPACT ORGANOLEPTIQUE DIRECT	95
2.2.1 Effet quantitatif	95
2.2.2 Effet qualitatif	103
2.3 IMPACT ORGANOLEPTIQUE INDIRECT.....	104
V. ETUDE DE LA MODULATION DU CARACTERE FRUITE DES VINS ROUGES PAR DES COMPOSES NON FRUITES	106
1. ORIGINE DE L'EFFET DE MASQUAGE DU CARACTERE FRUITS FRAIS ET D'AMPLIFICATION DU CARACTERE FRUITS CONFITURES	107
1.1 MISE EN EVIDENCE ET QUANTIFICATION DES CONSTITUANTS DES FRACTIONS IMPLIQUEES.....	107
1.2 ROLE DU DIACETYLE, DE L'ACETOÏNE, DE L'ACIDE ACETIQUE ET DE LA -BUTYROLACTONE DANS CES EFFETS PERCEPTIFS.....	111
2. IMPACT DU DIACETYLE, DE L'ACETOÏNE, DE L'ACIDE ACETIQUE ET DE LA -BUTYROLACTONE, PRIS INDIVIDUELLEMENT ET EN MELANGES, SUR L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES	114
2.1 PERCEPTION INDIVIDUELLE DE CES COMPOSES	114

2.2 EFFET DE LEUR PRESENCE, INDIVIDUELLE OU EN MELANGE, SUR L'ARÔME FRUITE	117
2.2.1 Effets sur l'intensité globale.....	118
2.2.2 Effets sur l'intensité du caractère de fruits frais	122
2.2.3 Effets sur l'intensité du caractère de fruits confiturés	125
VI. IMPACT EN MELANGE COMPLEXE D'ESTERS ETHYLIQUES ET D'ACETATES SUR L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES	131
1. VERIFICATIONS PREALABLES	133
1.1 PURETE DES ESTERS ETHYLIQUES ET ACETATES	133
1.2 EVOLUTION AU COURS DE L'ANALYSE SENSORIELLE DE LA COMPOSITION DES ECHANTILLONS.....	133
1.3 COMPOSITION DE L'ESPACE DE TETE DES ECHANTILLONS	135
2. HIERARCHISATION DE L'IMPACT DES COMPOSES	138
2.1 PERCEPTION INDIVIDUELLE DES COMPOSES.....	138
2.2 EFFET DE L'OMISSION D'UN OU PLUSIEURS COMPOSES	141
3. PROPRIETES OLFACTIVES DES COMPOSES PRESENTS A DES TENEURS INFRALIMINAIRES.....	143
3.1 EFFET QUANTITATIF	143
3.2 EFFET QUALITATIF	149
CONCLUSION GENERALE	153
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	159
ANNEXES.....	188

LISTE DES ABREVIATIONS

2MeC3C2	2-méthylpropanoate d'éthyle
2MeC4C2	2-méthylbutanoate d'éthyle
2OH4MeC5C2	2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle
3-AFC	3 - Alternative Forced Choice, 3 - Alternatives à Choix Forcé
3OHC ₄ C ₂	3-hydroxybutanoate d'éthyle
3SH	3-sulfanylhéxanol
A	Acétoïne
Ac	Acide acétique
AFNOR	Association Française de Normalisation
AOC	Appellation d'Origine Contrôlée
C ₂ C ₄	Acétate de butyle
C ₂ C ₆	Acétate d'hexyle
C ₂ iC ₄	Acétate de 2-méthylpropyle
C ₂ iC ₅	Acétate de 3-méthylbutyle
C ₃ C ₂	Propanoate d'éthyle
C ₄ C ₂	Butanoate d'éthyle
C ₆ C ₂	Hexanoate d'éthyle
C ₈ C ₂	Octanoate d'éthyle
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Pression

D	Diacétyle
DMS	Sulfure de diméthyle
EN	Norme européenne
F	Fractions
FID	Flamme Ionisation Detector, Détecteur à Ionisation de Flamme
GBL	-butyrolactone
GC	Gas Chromatography, Chromatographie en phase Gazeuse
GC-MS	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
GC-O	Gas Chromatography-Olfactometry, Chromatographie en phase Gazeuse-Olfactométrie
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
HS	Headspace, espace de tête
IC	Intervalles de Confiance
ILR	Indice Linéaire de Rétenion
ISO	International Organization for Standardization, Organisation internationale de normalisation
ISVV	Institut des Sciences de la Vigne et du Vin
m/z	Rapport masse sur charge des ions
NaCl	Chlorure de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NF	Norme française
O	Olfactometry, Olfactométrie

OAV	Odor activity value
pHMB	Acide p-hydroxymercuribenzoïque
RA	Reconstitution Aromatique
RC	Reconstitution Complète
SH	Solution Hydroalcoolique
SIM	Selected Ion Monitoring
SP	Seuil de Perception
SPME	Solid-phase microextraction
TAV	Titre Alcoométrique Volumique
VDR	Vin rouge désaromatisé
ZO	Zone Odorante

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux esters à caractère fruité identifiés dans les vins rouges

Tableau 2 : Tests triangulaires effectués en solution hydroalcoolique en utilisant diverses reconstitutions aromatiques (RA)

Tableau 3 : Composition des échantillons comparés à la matrice hydroalcoolique lors de tests triangulaires ($\mu\text{g/L}$)

Tableau 4 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests d'omissions réalisés

Tableau 5 : Composition des échantillons présentés pour la détermination de seuils de perception

Tableau 6 : Composition des échantillons présentés pour la détermination de seuils de perception "particuliers"

Tableau 7 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA)

Tableau 8 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA) dans deux matrices différentes (solution hydroalcoolique (1) et reconstitution aromatique à partir de fractions 17 à 22)

Tableau 9 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA)

Tableau 10 : Ions utilisés pour l'identification et la quantification des composés aromatiques dosés

Tableau 11 : Description des fractions obtenues par CLHP et des deux vins rouges correspondants

Tableau 12 : Distribution de quelques esters lors du fractionnement. Teneurs apportées par les fractions 16 à 22 aux reconstitutions aromatiques ($\mu\text{g/L}$)

Tableau 13 : Différences globales entre diverses reconstitutions aromatiques (RA)

Tableau 14 : Teneurs et rapports énantiomériques du leucate d'éthyle dans les vins à l'origine des reconstitutions aromatiques

Tableau 15 : Impact de l'addition à la RA (17 à 22) de la fraction 17 ou du leucate d'éthyle à la concentration apportée par la fraction 17.

Tableau 16 : Importance de l'addition du leucate d'éthyle dans la RA (18 à 22) du vin (3) sur l'effet exhausteur dû à la fraction 17

Tableau 17 : Importance de l'addition du leucate d'éthyle dans la RA (18 à 22) du vin (4) sur l'effet exhausteur dû à la fraction 17

Tableau 18 : Concentrations des énantiomères du leucate d'éthyle ($\mu\text{g/L}$) dans les vins

Tableau 19 : Probabilités de détection du mélange énantiomérique R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) en solution hydroalcoolique : valeurs obtenues expérimentalement et estimées selon le modèle de Feller

Tableau 20 : Nombre de citations de certains descripteurs pour le R- et le S-leucate d'éthyle

Tableau 21 : Olfactogramme obtenu suite à l'analyse sur colonne BP21 de l'extrait aromatique de la RA (3 à 5)

Tableau 22 : Teneurs apportées par les fractions 3, 4 et 5 aux reconstitutions aromatiques (mg/L)

Tableau 23 : Impact de l'addition à la RA (17 à 22) des fractions 3 à 5 ou du diacétyle, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5

Tableau 24 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22) de fractions 3 à 5 ou de diacétyle, acétoïne, acide acétique et γ -butyrolactone aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5 sur l'intensité fruitée

Tableau 25 : Impact de l'addition à la solution hydroalcoolique de l'acétoïne, de l'acide acétique, de la γ -butyrolactone et du diacétyle, aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5

Tableau 26 : Calcul des valeurs de Tau () et Sigma () pour le mélange de l'acétoïne avec la RA (17 à 22)

Tableau 27 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyle (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité olfactive globale, la note de fruits frais et la note de fruits confiturés

Tableau 28 : Impact olfactif de l'ajout isolé des différents esters en solution hydroalcoolique

Tableau 29 : Seuils de perception et concentrations testées pour évaluer la perception individuelle des composés

Tableau 30 : Impact de l'omission de divers esters sur l'odeur des reconstitutions aromatiques

Tableau 31 : Probabilités de détection Exemple de calcul de la probabilité de détection de la RC à l'exception du propanoate d'éthyle (C_3C_2) en solution hydroalcoolique additionnée du C_3C_2 ($150\mu\text{g/L}$) dans le verre "positif" : valeurs obtenues expérimentalement et estimées selon le modèle de Feller

Tableau 32 : Synthèse des effets de l'omission de quelques esters sur l'odeur des reconstitutions aromatiques

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation des voies de stimulation orthonasale (a ; orthonasal olfaction - sniffing in) et rétronasale (b ; retronasal olfaction - breathing out) ainsi que de structures du système nerveux impliquées dans la perception (d'après Shepherd, 2006).

Figure 2 : Représentation de premières structures impliquées dans le traitement de l'information olfactive (d'après Firestine, 2001).

Figure 3 : Représentation schématique des centres supérieurs impliqués dans le traitement de l'information olfactive (d'après Sicard *et al.*, 1997 ; Zatorre *et al.*, 1992).

Figure 4 : Évolution de l'intensité perçue en fonction de la concentration du stimulus (d'après Sauvageot, 1990).

Figure 5 : Effets quantitatifs concernant les mélanges binaires dits homogènes (d'après Cain et Drexler, 1974, Berglund *et al.*, 1976 et Thomas-Danguin, 1997).

Figure 6 : Effets quantitatifs concernant les mélanges binaires dits hétérogènes (d'après Cain et Drexler, 1974, Berglund *et al.*, 1976 et Thomas-Danguin, 1997).

Figure 7 : Représentation graphique [$I = f(C)$] introduite par Patte et Laffort (1979) illustrant les résultats sur l'intensité d'un mélange binaire tels que définis par Cain et Drexler (1974).

Figure 8 : Profils sensoriels du vin (1) et de quelques reconstitutions aromatiques (RA) correspondantes.

Figure 9 : Profils sensoriels du vin (2) et de quelques reconstitutions aromatiques (RA) correspondantes.

Figure 10 : Effet de la fraction 17 sur l'odeur de la RA (18 à 22) du vin (3).

Figure 11 : Effet de la fraction 17 sur l'odeur de la RA (18 à 22) du vin (4).

Figure 12 : (a) Chromatogramme, en mode scan, de l'extrait brut de la reconstitution aromatique de la fraction 17. (b) Spectre de masse du pic présentant un ILR 1522. (c) Spectre de masse du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle selon NIST 2008 (NIST register number = 65090, CAS number = 10348-47-7). (d) Spectre de masse du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle de référence.

Figure 13 : (a) : R- 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle (R-leucate d'éthyle, CAS number = 60856-83-9). (b) : S-2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle (S-leucate d'éthyle, CAS number = 60856-85-1).

Figure 14 : Chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne chirale (- cyclodextrine) du mélange racémique de leucate d'éthyle.

Figure 15 : Formation du R-leucate d'éthyle à partir l'acide aminé correspondant.

Figure 16 : Probabilités de détection du leucate d'éthyle dans deux matrices différentes.

Figure 17 : Probabilités de détection du mélange énantiomérique R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) déterminés expérimentalement et calculés selon le modèle de Feller dans deux matrices différentes.

Figure 18 : Effet de la matrice sur la probabilité de détection du leucate d'éthyle.

Figure 19 : Probabilités de détection du mélange énantiomérique R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) déterminés expérimentalement et calculés selon le modèle de Feller dans la RA (18 à 22).

Figure 20 : Effet de la présence du leucate d'éthyle sur la probabilité de détection de la RA (18 à 22).

Figure 21 : Chromatogramme, en mode scan, de l'extrait brut de la reconstitution aromatique des fractions 3 à 5.

Figure 22 : (a) Spectres de masse des composés dans la RA (3 à 5). (b) Spectres de masse des composés selon NIST 2008. (c) Spectres de masse des composés de référence.

Figure 23 : Effet de l'addition du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone à la solution hydroalcoolique (SH).

Figure 24 : Effet de l'addition de l'acétoïne sur l'odeur de la RA (17 à 22). Représentation graphique [$I = f(\text{A})$] introduite par Patte et Laffort (1979).

Figure 25 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyl (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité olfactive globale. Représentation graphique [$I = f(\text{D, A, Ac, GBL, F})$] introduite par Patte et Laffort (1979).

Figure 26 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyl (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité de la note de fruits frais. Représentation graphique [$I = f(\text{D, A, Ac, GBL, F})$] introduite par Patte et Laffort (1979).

Figure 27 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyl (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité de la note de fruits confiturés. Représentation graphique [$I = f(\text{D, A, Ac, GBL, F})$] introduite par Patte et Laffort (1979).

Figure 28 : Evolution des teneurs en esters en solution au cours du temps dans les conditions d'une séance d'analyse sensorielle.

Figure 29 : Effet de la constitution de la matrice sur les teneurs en quelques esters dans l'espace de tête.

Figure 30 : Probabilités de détection du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle en solution hydroalcoolique.

Figure 31 : Effet de l'addition du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle sur la probabilité de détection des reconstitutions aromatiques.

Figure 32 : Probabilités de détection des reconstitutions aromatiques déterminées expérimentalement et calculées selon le modèle de Feller.

Figure 33 : Effet de l'omission du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle sur l'odeur des reconstitutions aromatiques.

INTRODUCTION

Indéniablement, les arômes spécifiques des vins rouges ont fait l'objet de bien moins d'études que ceux des vins blancs. L'existence même d'un arôme fruité caractéristique des vins rouges, différent de celui des vins blancs, restait même encore relativement controversée jusque dans le courant des années 2000 (Piombino *et al.*, 2003). Depuis, les travaux de Pineau (2007), en délimitant un espace sensoriel olfactif spécifique tel que défini par Ballester (2004), ont permis de prouver la réalité sensorielle de l'existence d'un arôme fruité propre aux vins rouges et de décrire leur typicité olfactive.

Les démarches initiées sur des vins blancs issus de cépages aromatiques comme par exemple le Muscat, le Gewürztraminer ou encore le Sauvignon et visant à caractériser des composés d'origine variétale qualifiés de "clés" de leur arôme (à savoir présentant des notes olfactives se retrouvant dans l'arôme de ces vins et se trouvant à des teneurs nettement supérieures à leurs seuils de perception) ont connu un véritable succès avec la mise en évidence par exemple du rôle de terpénols ou de thiols volatils (Marais, 1983 ; Tominaga *et al.*, 1996).

De nombreux auteurs ont abordé l'étude de l'arôme fruité des vins rouges sous un angle analogue en tâchant de caractériser des composés aromatiques spécifiques responsables de ces notes (Aznar *et al.*, 2001 ; Campo *et al.*, 2007 ; Culleré *et al.*, 2004 ; Kotseridis et Baumes, 2000 ; Moio et Etiévant, 1995) sans pouvoir mettre en évidence l'existence de molécules aromatiques "clés" à l'origine de cette typicité fruitée, ce qui ne signifie pas pour autant que ce type de marqueur soit effectivement absent des vins rouges.

Quoiqu'il en soit l'approche de l'interprétation d'un arôme à partir de ses constituants considérés comme "clés", dont la concentration est supérieure à leur seuil de perception, connaît quelques limites. En effet, l'arôme des mélanges reconstitués à partir de ces composés "clés" diffère généralement assez largement de celui des vins originaux (Ryan *et al.*, 2008 ; Barbe *et al.*, 2008).

Les travaux de Pineau *et al.* (2009) ont permis des avancées importantes dans la compréhension des mécanismes de l'expression fruitée des vins rouges. Grâce à des tests de reconstitutions aromatiques, ces auteurs ont montré la contribution globale d'esters éthyliques et d'acétates, présents à des teneurs inférieures à leur seuil de perception. Ils ont de plus observé que, des interactions perceptives toutes particulières, comme, de très faibles variations de concentrations (parfois de l'ordre de quelques pourcents du seuil de perception)

modifient l'arôme fruité des matrices reconstituées. Même si, quantitativement, elles n'étaient pas aussi marquantes, d'autres interactions perceptives ont été décrites impliquant des furanones (Furanéol[®] et Homofuranéol[®]) (Kotseridis, 1999), des norisoprénoïdes à 13 atomes de carbone comme la -damascénone (Kotseridis, 1999, Escudero *et al.*, 2007 ; Pineau *et al.*, 2007) ou encore certains composés soufrés tel le sulfure de diméthyle ou diméthyle sulfure (Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996 ; Ségurel *et al.*, 2004) qui, ainsi, peuvent contribuer de manière indirecte à l'expression fruitée des vins rouges.

Au vu des acquisitions récentes concernant l'importance des interactions perceptives et des difficultés rencontrées pour reconstituer fidèlement l'arôme des vins à partir uniquement des composés considérés comme "clés", nous nous proposons de tenter d'explicitier l'expression aromatique des vins en abordant le sujet par la mise en œuvre de reconstitutions aromatiques élaborées à partir de fractions issues du vin lui même. Nous nous consacrerons tout particulièrement aux notes fruitées, de fruits rouges et noirs, frais ou confiturés, des vins rouges. L'analyse sensorielle constituera bien évidemment l'outil nous permettant d'apprécier le comportement des odorants en mélanges particuliers.

Nous nous attacherons, dans un premier temps, au développement d'une méthode permettant d'élaborer des reconstitutions aromatiques représentatives de l'arôme fruité des vins auxquelles elles correspondent. A partir des fractions à l'origine de cet arôme fruité, divers essais impliquant, en association, d'autres fractions aromatiques seront envisagés afin de rechercher des interactions perceptives tout à fait remarquables.

Dans un second temps, l'étude compositionnelle des fractions à l'origine de ces interactions perceptives particulières sera abordée et les mécanismes de ces interactions tenteront d'être décryptés grâce à la mise en œuvre de nouvelles reconstitutions aromatiques à partir des constituants mêmes des fractions.

Enfin, dans le prolongement des récents travaux de Pineau *et al.* (2009), reprenant le mélange complexe où ont été mis en exergue le rôle de certaines interactions perceptives toutes particulières dans l'expression fruitée des vins rouges, nous nous pencherons plus en détail sur le comportement des esters qui y avaient été mis en évidence afin de l'explicitier précisément et d'évaluer quantitativement et qualitativement leur impact en mélange complexe.

I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LA PERCEPTION OLFACTIVE : DE LA PHYSIOLOGIE A L'ANALYSE SENSORIELLE

1.1 PHYSIOLOGIE DE LA PERCEPTION DES ODEURS : LE SYSTEME OLFACTIF

La *perception* est une prise de conscience sensorielle, une interprétation de la sensation. Il s'agit d'une "opération psychologique complexe par laquelle l'esprit, en organisant les données sensorielles, se forme une représentation des objets extérieurs et prend connaissance du réel", nous dit le *Trésor de la Langue Française* (2006).

La perception olfactive n'est donc pas, comme on pourrait être tenté de le croire, une propriété simple, seulement liée au stimulus, mais un événement caractéristique à la fois du stimulus et de l'individu. L'olfaction représente l'ensemble du processus relatif à la prise de conscience d'un événement extérieur (présence d'une ou plusieurs molécules), comprenant la transduction des signaux chimiques en signaux électriques, au niveau de l'épithélium olfactif, leur prétraitement au niveau du bulbe olfactif et leur traitement par les centres supérieurs (Holley et MacLeod, 1977).

Tout commence dans les fosses nasales, aussi appelées cavités nasales, où se situe la muqueuse olfactive.

Deux voies d'accès des stimuli vers la muqueuse olfactive sont possibles : soit en passant par les narines, lors de l'inspiration, c'est la voie dite "directe" ou orthonasale, soit en passant par le carrefour rhino-pharyngé, lors de l'expiration ou de la mastication des aliments, c'est la voie "indirecte" ou "rétronasale" (Lanza et Clerico, 1995) (**Figure 1**).

Selon la norme ISO 5492 (2009), en termes de perception, on parle d'"odeur" si les composés atteignent l'organe olfactif par voie directe (orthonasale) et on parle d'"arôme" si les composés atteignent l'organe olfactif par voie indirecte (rétronasale).

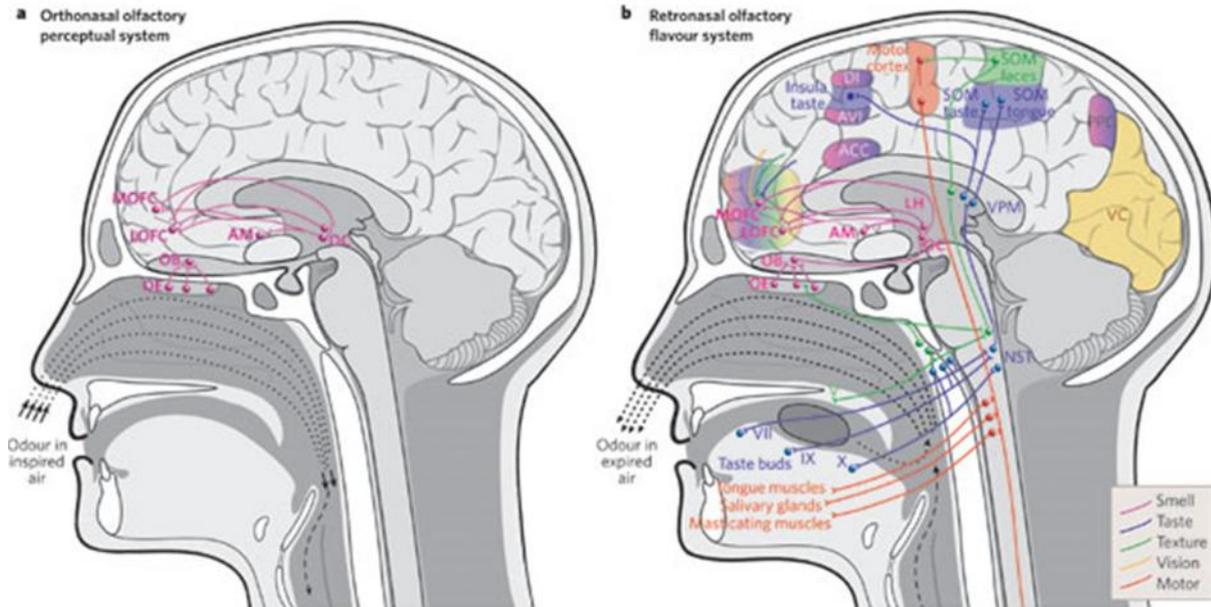


Figure 1 : Représentation des voies de stimulation orthonasale (a ; orthonasal olfaction - sniffing in) et rétronasale (b ; retronasal olfaction - breathing out) ainsi que de structures du système nerveux impliquées dans la perception. Les flux d'air sont représentés par les lignes en pointillés. ACC, accumbens ; AM, amygdale ; AVI, cortex insulaire ventral antérieur ; DI, cortex insulaire dorsal ; LH, hypothalamus latéral ; LOFC, cortex orbitofrontal latéral ; MOFC, cortex orbitofrontal médial ; NST, noyaux du tractus solitaire ; OB, bulbe olfactif ; OC, cortex olfactif ; OE, épithélium olfactif ; PPC, cortex pariétal postérieur ; SOM, cortex somatosensoriel ; V, VII, IX, X, nerfs crâniens ; VC, cortex primeur visuel ; VPM, noyaux thalamiques ventral postéromédiaux (d'après Shepherd, 2006).

1.1.1 La muqueuse olfactive

La muqueuse olfactive, constituée du mucus et de l'épithélium olfactif, est située dans la partie haute et postérieure de chacune de deux cavités nasales. Elle présente une surface de 1 à 3 cm² chez l'homme, mais varie selon les individus (Lanza et Clerico, 1995). Elle est constituée de l'épithélium olfactif, séparé d'un tissu conjonctif (*lamina propria*) par la lame basale. L'épithélium olfactif est constitué de trois principaux types de cellules : les neurones récepteurs (ou cellules olfactives réceptrices), entourés par des cellules de soutien ainsi que des cellules basales (ou cellules souches).

Les molécules odorantes, transportées par l'air atteignent cette muqueuse olfactive. Avant d'interagir au niveau de l'épithélium olfactif, les molécules odorantes doivent d'abord pénétrer une couche de mucus, un liquide hydrophile sécrété par des cellules glandulaires, d'une épaisseur estimée à 30µm (Getchell *et al.*, 1988). Le mucus est un film de protection vis à vis l'extérieur, assurant un lavage permanent de la muqueuse (Freitag *et al.*, 1998).

Cette pénétration peut se faire directement par diffusion à travers le mucus vers l'épithélium olfactif. Certaines molécules odorantes comportant seulement 1 ou 2 groupes hydrophiles avec une masse moléculaire inférieure à 350 et suffisamment volatils pour atteindre l'épithélium olfactif, ont un caractère hydrophobe assez marqué et elles sont très peu solubles dans le mucus olfactif (Chastrette, 1997). Des protéines de transports appelées Odorant-Binding protein (OBP) pourraient faciliter la solubilisation et le transport de ces molécules odorantes (Pelosi, 1994, Tegoni *et al.*, 2000 ; Ko et Park, 2008).

Les cellules de soutien ne semblent pas intervenir directement dans le traitement de l'information olfactive. Cependant, outre leur rôle de cohésion du tissu (Graziadei et Metcalf, 1971), elles participent à la formation du mucus et jouent un rôle important sur la régulation de l'environnement ionique et le bon fonctionnement des neurorécepteurs (Getchell et Getchell, 1977). Les cellules basales sont les cellules qui peuvent se différencier en neurones olfactifs. En effet les récepteurs olfactifs croissent, meurent et sont renouvelés au bout de 4 à 8 semaines (Féron *et al.*, 1999). Les neurones récepteurs (cellules réceptrices) sont des neurones bipolaire de petite taille, formés d'axones se projetant vers la région bulbaire et de dendrites affleurant à la surface de épithélium, assurant la transmission de l'information (Menco *et al.*, 1997). Ces extrémités portent les cils olfactifs pourvus des récepteurs sensibles aux stimuli chimiques (Sicard *et al.*, 1997).

Ces récepteurs olfactifs appartiennent à une famille particulière des récepteurs couplés à la protéine G (Buck et Axel 1991). L'amplification de l'énergie après fixation des odorants avec les récepteurs et sa transformation en signal électrique, nécessite des nombreuses réactions enzymatiques dont la première étape est l'activation d'une protéine G. Plusieurs travaux d'électrophysiologie ont attesté que ces neurones répondent aux stimulations olfactives par un courant dépolarisant (Sicard et Holley, 1984 ; Trotier et MacLeod, 1986).

La membrane des cils olfactifs est riche en éléments protéiques indispensables pour générer un potentiel d'action lors de l'interaction molécule-récepteur. Le signal chimique est ainsi transformé en signal électrique.

Bien que chaque neurone olfactif exprime un seul type de récepteur moléculaire aux odeurs (Chess *et al.*, 1994 ; Serizawa *et al.*, 2000), il a aussi été montré qu'un neurone récepteur pouvait être activé par un grand nombre de molécules odorantes. Ainsi chaque neurone

récepteur reconnaît plusieurs odorants et chaque odorant peut se fixer sur plusieurs récepteurs (Sicard et Holley, 1984 ; Malnic *et al.*, 1999 ; Touhara, 2002).

Les axones des neurorécepteurs olfactifs se regroupent en faisceaux, traversent la lame criblée de l'ethmoïde pour se projeter dans des zones du bulbe olfactif, appelées glomérules. Le bulbe olfactif est la première région du système nerveux à traiter l'information olfactive (Astic et Saucier, 1986 ; Saucier et Astic, 1986 ; Astic *et al.*, 1987). Les neurones exprimant les mêmes récepteurs se projettent dans les mêmes glomérules ainsi, pour chaque odorant ou mélange d'odorants, il y a un ensemble unique de glomérules activés (Malnic *et al.*, 1999).

1.1.2 Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif établit un relais de transmission de l'information entre les récepteurs olfactifs et les différents centres sensoriels du cortex cérébral olfactif (Axel, 1995).

Dans le bulbe olfactif, les neurones récepteurs forment des synapses avec les cellules mitrales, assurant ainsi la transmission du message vers le cortex. Des cellules granulaires, formant la couche interne du bulbe olfactif, assurent des connexions latérales entre différentes cellules mitrales, et pourraient permettre une modulation du message olfactif (**Figure 2**).

1.1.3 Projections des afférences olfactives dans le système nerveux

Les axones des cellules mitrales se projettent vers le cortex olfactif primaire grâce au tractus olfactif latéral (Brand, 1999). Le système olfactif relève d'une organisation à la fois spatiale et temporelle du traitement de l'information olfactif (Zatorre *et al.*, 1992 ; Firestine, 2001 ; Zou *et al.*, 2001) (**Figure 2**). Au contraire de toute autre information sensorielle, le message olfactif n'est pas traité préliminairement par le thalamus (Gottfried, 2006). Le cortex olfactif primaire est constitué du noyau du tractus olfactif latéral, du tubercule olfactif (peu développé chez l'homme), du noyau olfactif antérieur, du cortex piriforme, du cortex péri-amygdalien, du cortex entorhinal latéral et du ténia tecta ventral (Brand, 1999) (**Figure 3**). Ces différentes aires corticales sont interconnectées. Les cortex piriforme et péri-amygdalien sont liés aux fonctions de mémorisation et d'apprentissage de l'information olfactive (Gottfried, 2006).

Depuis ces aires primaires, l'information olfactive est transmise vers l'hippocampe (centre de la mémoire), l'hypothalamus (siège des émotions), le thalamus puis vers le cortex orbitofrontal à l'origine des réponses durables (discrimination, jugement hédonique) (Zald et Pardo, 2000).

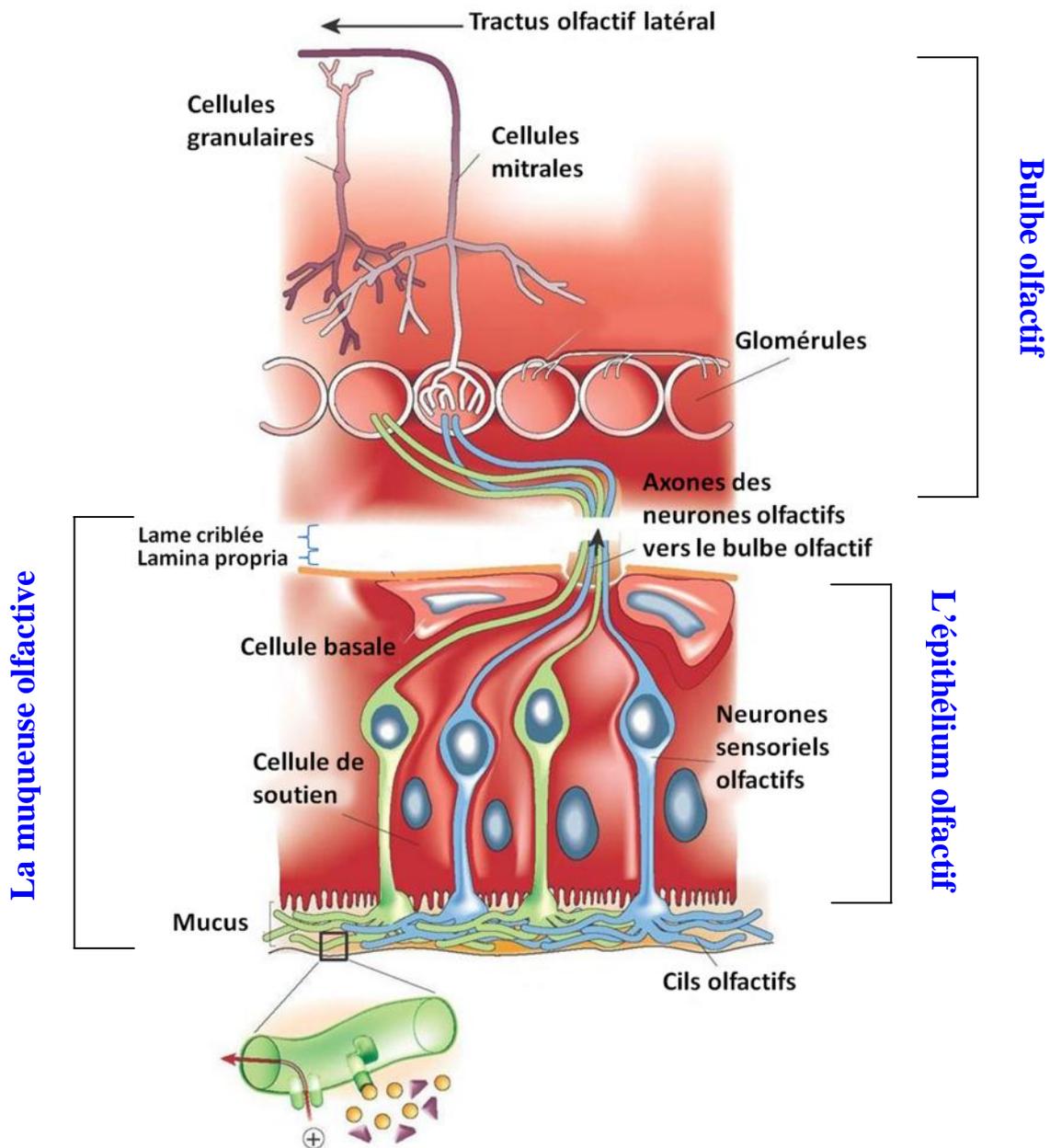


Figure 2 : Représentation de premières structures impliquées dans le traitement de l'information olfactive (d'après Firestine, 2001).

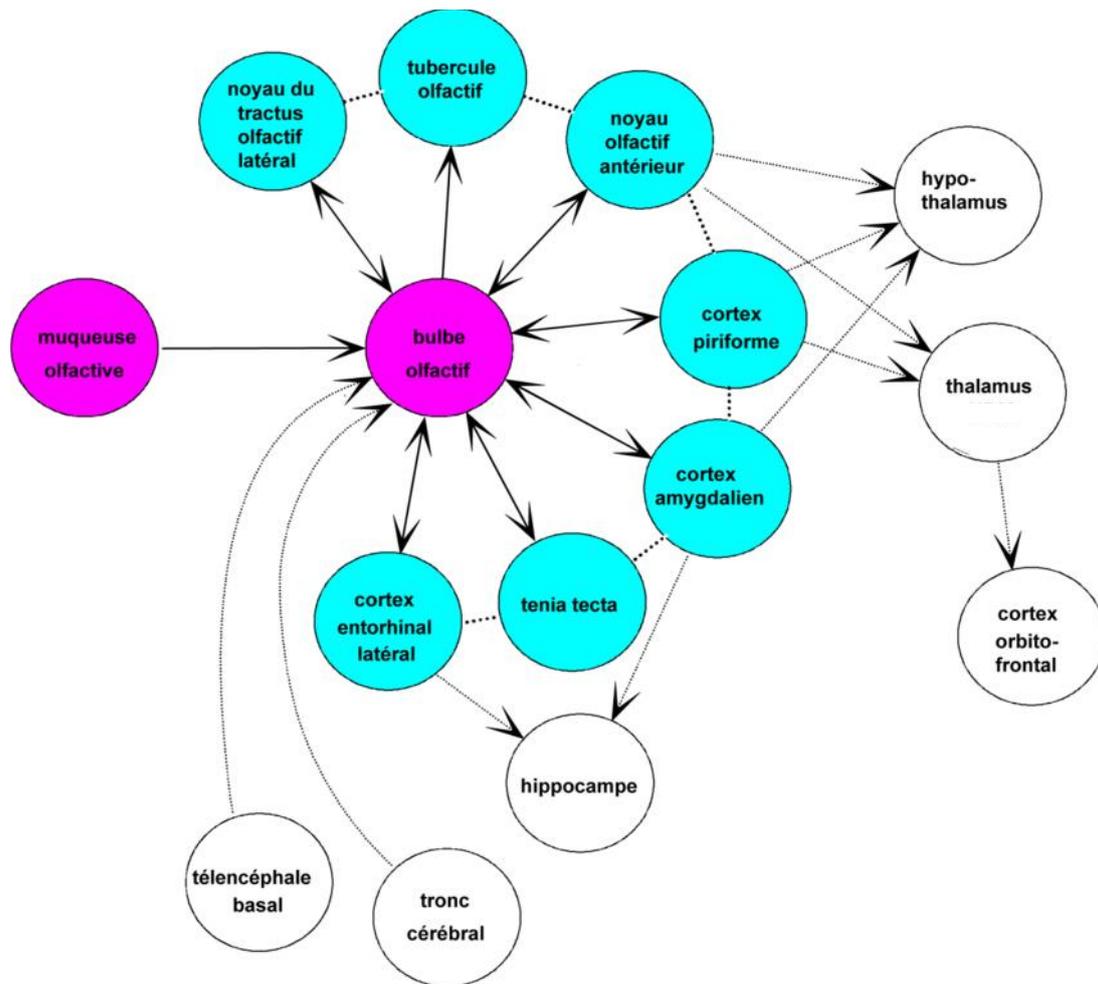


Figure 3 : Représentation schématique des centres supérieurs impliqués dans le traitement de l'information olfactive (d'après Sicard *et al.*, 1997 ; Zatorre *et al.*, 1992).

1.2 LA PERCEPTION DES ODEURS

La psychophysique est la "science exacte de la relation fonctionnelle entre les mondes physique et psychique (mental)" (Fechner, 1860). Cette science pluridisciplinaire résulte notamment de deux spécialités que sont la physiologie et la psychologie. Elle permet d'étudier la réponse des sujets face à un stimulus olfactif et de traduire leur perception olfactive.

La perception olfactive est dimensionnée suivant trois modalités : la perception quantitative (l'intensité), la perception qualitative (l'identification) et la perception hédonique (la sensation agréable/désagréable). Ces dimensions ne sont pas indépendantes les unes des autres.

1.2.1 La perception quantitative de l'odeur

La dimension quantitative concerne la mesure de l'intensité de la perception olfactive d'une odeur. L'intensité de la perception dépend de l'intensité du stimulus. Toutefois, la relation n'est pas linéaire (Sauvageot, 1990) (**Figure 4**). La courbe donnant l'intensité de l'odeur en fonction de la grandeur du stimulus présente quatre domaines :

Le domaine infraliminaire, dans lequel la sensation est confuse, instable et noyée dans le bruit du fond.

Le domaine liminaire, dans lequel la sensation est perçue de façon aléatoire, parfois nette, parfois confuse. Le seuil de perception se situe dans cette zone.

Le domaine supraliminaire, dans lequel la sensation est nette et son intensité varie de faible à fort quand la grandeur du stimulus augmente. Le seuil de reconnaissance se situe dans cette zone.

Le domaine de saturation, dans lequel l'intensité de la sensation ne varie pratiquement plus quand on augmente celle du stimulus.

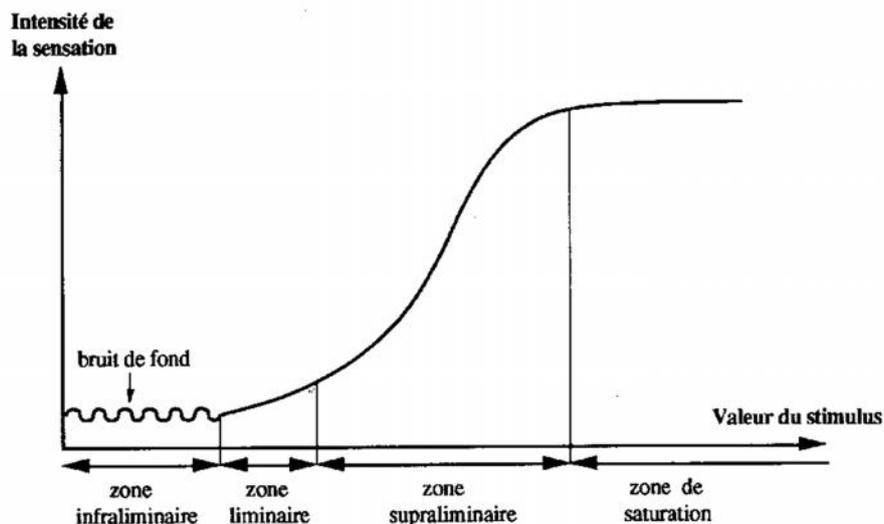


Figure 4 : Évolution de l'intensité perçue en fonction de la concentration du stimulus (d'après Sauvageot, 1990).

La détermination des seuils est un sujet d'étude central en psychophysique qui est largement appliqué en agroalimentaire.

La norme française AFNOR (NF ISO 13301 : 2002) définit deux seuils principaux :

Seuil d'apparition, ou seuil de détection, ou seuil de perception : valeur minimale du stimulus sensoriel nécessaire à l'éveil d'une sensation. Cette sensation peut ne pas être identifiée.

Seuil d'identification, ou seuil de reconnaissance : valeur minimale du stimulus sensoriel permettant d'identifier la sensation perçue.

Etant donnée la diversité de sensibilité entre individus, on peut considérer que la valeur d'un seuil de perception olfactif n'est pas une constante physique, mais bien une estimation statistique valable pour un groupe d'individus donné et pour des conditions expérimentales fixées (Cha, 1998). Cet effet pourrait alors expliquer la variabilité des seuils de perception trouvés dans la littérature pour un même composé. Tempere *et al.* (2011) ont mesuré les seuils de perception olfactif pour 10 composés odorants clés du vin d'un large groupe de professionnels (supérieur à 100 personnes). Ces auteurs ont observé que les distributions des seuils de perception individuels s'étalaient sur une gamme de concentration d'un facteur 1000.

1.2.2 La perception qualitative de l'odeur

La dimension qualitative concerne la reconnaissance et l'identification d'une odeur par un sujet. Dans la pratique cette modalité revient à faire correspondre une perception d'odeur avec des odeurs identifiées, soit par reconnaissance en comparant à des odeurs mémorisées antérieurement, soit par description. Elle met donc en jeu, pour les sujets, la mémoire olfactive : il est nécessaire d'avoir été préalablement conforté à une odeur pour la reconnaître. La mémoire épisodique est un cas particulier où l'odeur est associée à un événement, la madeleine de Proust en somme.

La *reconnaissance* dépend surtout des connaissances que nous avons sur l'odeur en question. Dans les épreuves de reconnaissance, on demande au sujet de discerner les odeurs anciennes déjà rencontrées d'odeurs nouvelles (Richardson et Zucco, 1989).

L'*identification* peut être considérée comme la capacité à nommer le stimulus quand la mémoire sémantique et en particulier du langage est mis en jeu (Engen, 1982). Une odeur peut paraître connue sans qu'il ne soit possible de la nommer. Elle peut paraître familière sans qu'il ne soit possible de la décrire. Cette impression d'avoir une "odeur sur le bout du nez" ("tip of the nose phenomenon", Lawless et Engen, 1977) témoigne d'une "mémoire implicite des odeurs qu'il n'est pas toujours possible de relier aux formes explicites de mémoire, en particulier à la mémoire sémantique, qui relie entre elles nos connaissances" (Rouby *et al.*, 2005).

1.2.3 La perception hédonique de l'odeur

La dimension hédonique concerne le jugement du caractère agréable ou désagréable d'une odeur (Gulas et Bloch, 1995). Distel *et al.* (1999) ont décrit que l'intensité d'une odeur influence son caractère agréable ou désagréable et qu'une odeur agréable peut devenir désagréable à de très fortes concentrations. Cette relation n'a pas été confirmée pour tous les composés étudiés par Moskowitz *et al.* (1976). Par exemple la vanilline est perçue comme agréable quelle que soit la concentration présentée.

1.3 METHODOLOGIE DE L'ANALYSE SENSORIELLE

Dans le cas d'études de produits complexes, comme le vin, l'industrie de l'agroalimentaire a proposé des méthodes d'analyses normées issues de la psychophysique. L'analyse sensorielle permet de mesurer les perceptions sensorielles. Elle est utile afin d'analyser, apprécier, connaître et décrire les propriétés organoleptiques du produit.

Trois types d'épreuves sensorielles se distinguent : les épreuves discriminatives, descriptives et hédoniques. La quantification, la qualification et la détermination de l'existence de différences sensorielles entre les vins sont analysées grâce aux épreuves descriptives et discriminatives. Quant aux épreuves hédoniques, elles ciblent les consommateurs afin de définir leurs préférences par rapport à différents vins (Martin et de Revel, 1999).

Selon la problématique posée, l'analyse sensorielle peut prendre différentes formes, chacune permettant de répondre à un problème spécifique et requérant des outils différents.

1.3.1 Les épreuves d'analyse sensorielle

1.3.1.1 Les épreuves discriminatives

Les tests de discrimination, permettent de comparer deux ou plusieurs vins dont on cherche à évaluer s'ils présentent des différences sensorielles, la plupart du temps ces différences sont très faibles. Les sujets participant à ces tests peuvent être non entraînés. En effet il est aisé de mettre en place et d'interpréter les tests discriminatifs étant donné que leur but n'est ni d'identifier, ni de quantifier ces différences entre échantillons. L'intérêt est seulement porté sur les différences globales entre échantillons sans précision liée à la nature ou l'intensité de celles-ci.

Pour ce faire, il est présenté plusieurs échantillons certains d'entre eux sont identiques (répétitions) et d'autres sont différents. Le but est pour chaque sujet de désigner lors de chaque test l'échantillon (les échantillons) qui lui semble(nt) différent(s) même s'il n'est pas sûr de sa réponse. L'épreuve dite "triangulaire" est l'épreuve discriminative la plus utilisée. Son principe est de présenter simultanément aux sujets, qui doivent désigner l'échantillon différent, un jeu de trois échantillons dont deux sont identiques (NF EN ISO 4120 : 2007). Six présentations sont possibles suivant la nature du produit répété (A ou B) et la position de l'échantillon unique : AAB, ABA, BAA, BBA, BAB, ABB. L'interprétation statistique des résultats repose sur un test d'hypothèse mais, afin de faciliter l'analyse des réponses, des tables (table de la loi binomiale) sont disponibles dans la littérature (NF EN ISO 4120 : 2007) (Martin de Revel, 1999).

1.3.1.2 Les épreuves descriptives

Les épreuves descriptives s'intéressent à la nature des différences entre échantillons au contraire des épreuves discriminatives basées sur les différences globales. L'intensité des caractères sensoriels est comparée entre échantillons. Ces tests, nécessitant des sujets

familiarisés aux caractères étudiés, permettent de repérer des différences clairement distinctes entre différents produits (Martin et de Revel, 1999).

Deux types d'épreuves descriptives sont habituellement utilisés :

Le premier se focalise sur un seul critère sensoriel. Il ne nécessite qu'un panel entraîné sur ce seul critère, ce qui est donc plus simple à mettre en place. On distingue différentes épreuves : les épreuves de classement, permettant de classer simultanément plusieurs échantillons selon l'intensité d'un caractère particulier et les épreuves de notation simple, permettant de comparer l'intensité du critère étudié entre plusieurs échantillons à l'aide d'une échelle de notation.

Le deuxième, le profil sensoriel, permet d'évaluer plusieurs critères sensoriels afin de caractériser un ensemble de perceptions. Pour obtenir un profil sensoriel, il est d'abord nécessaire de recueillir auprès de chaque dégustateur les grandeurs qui, pour lui, sont représentatives des échantillons. Les termes spécifiés sont ensuite mis en commun, discutés et sélectionnés (NF ISO 11035 : 1995) afin d'obtenir des descripteurs caractéristiques pour l'ensemble du panel. La dernière étape consiste à noter les échantillons sur la base de la fiche commune entre les sujets. La fiche descriptive comprenant tous les descripteurs est établie dans l'ordre chronologique d'évaluation des critères : appréciation visuelle, olfactive, gustative, de texture, arrière-goût et persistance, etc. L'obtention d'un profil sensoriel est donc un processus complexe nécessitant un panel compétent et entraînés.

Les données obtenues sont ensuite traitées statistiquement.

1.3.1.3 Les épreuves hédoniques

Le but de l'évaluation hédonique est de rechercher les sources de satisfaction pour le consommateur sur différents aspects du produit. Il s'agit de critères subjectifs liés au pouvoir d'attraction du produit. Pour ce faire, il est impératif d'effectuer ce test sur des consommateurs ordinaires ne cherchant pas à effectuer une analyse systématique des défauts (Martin et de Revel, 1999).

1.3.2 Facteurs conditionnant les résultats d'une analyse sensorielle

Plusieurs facteurs peuvent affecter la réponse sensorielle. L'efficacité de la mesure sensorielle est en relation directe avec la composition du panel. Cette réponse peut différer fortement selon les variations interindividuelles.

Par exemple, un individu peut être très sensible à un stimulus et moins à un autre. Des facteurs génétiques peuvent influencer la sensibilité olfactive. Les sujets dits spécifiquement anosmiques (ou hyposmiques) présentent une faible sensibilité pour un odorant qu'ils ne sont capables de détecter qu'à des concentrations très élevées (Amoore *et al.*, 1968). Différentes études mettent en évidence une variation de la capacité de détection en fonction du statut hormonal chez la femme (Doty *et al.*, 1981 ; Koelega et Köster, 1974 ; Velle, 1987 ; Doty et Cameron, 2009). L'âge du sujet semble aussi moduler la capacité de détection : la sensibilité olfactive réduit avec l'âge et sa perte semble d'accélérer après 60 ans (Cain *et al.*, 1988 ; Cain et Gent, 1991 ; Thomas-Danguin *et al.*, 2003). Concernant le sexe, malgré quelques controverses, il apparaît que les femmes sont les plus sensibles (Doty *et al.*, 1981 ; Koelega, 1994). Il a été remarqué que la sensibilité olfactive peut aussi être influencée par des phénomènes d'adaptation dans lesquels la nature du stimulus, sa concentration et la durée de stimulation jouent un rôle primordial (Cometto-Muñiz et Cain, 1995). L'adaptation olfactive désigne la réduction de la sensibilité à une odeur, une modification temporaire suite d'une stimulation continue ou répétée. Il a été aussi montré que l'apprentissage favorise les capacités olfactives et qu'il joue un rôle important dans la détection d'une odeur (Tempere *et al.*, 2011 ; Tempere *et al.*, 2012).

Plusieurs facteurs peuvent influencer la capacité d'identification (Béguin et Costermans, 1994). D'abord la familiarité avec l'échantillon proposé (Desor et Beauchamps, 1974 ; Engen et Pfaffmann, 1960 ; Summer, 1962 ; Wood et Harkins, 1987) mais aussi le degré d'expertise ou d'entraînement des sujets (Cain, 1979 ; Desor et Beauchamps, 1974 ; Doty *et al.*, 1984 ; Jones, 1968 ; Schemper *et al.*, 1981 ; Wood et Harkins 1987) sont des facteurs primordiaux. L'âge du sujet semble influencer la capacité d'identification (Doty *et al.*, 1984 ; Gilbert et Wysocki, 1987 ; Larsson *et al.*, 2004). Les personnes âgées sont moins susceptibles d'identifier les odeurs (Doty *et al.*, 1985) . La culture ainsi que l'environnement social du sujet pourrait influencer la capacité de l'identification du sujet (Gilbert et Wysocki, 1987). Finalement, bien qu'il existe un débat entre les chercheurs concernant l'effet du genre sur

l'identification d'une odeur, il semblerait que les femmes présentent des meilleures performances d'identification (Doty *et al.*, 1985).

Le caractère hédonique d'une odeur varie en fonction d'un ensemble de paramètres sociologiques, psychologiques et culturels. Les réactions affectives d'un groupe à des odeurs ne peuvent être étendues à une population toute entière. L'âge du sujet semble influencer la réponse hédonique (Konstantinidis *et al.*, 2006). Certains auteurs considèrent que le rôle de l'apprentissage, de l'influence socioculturelle dès l'enfance ainsi que la mémoire semblent primordial dans l'établissement des préférences et des aversions olfactives (Ayabe-Kanamura *et al.*, 1998). De même, la familiarité peut avoir une influence. Les recherches ont montré qu'une odeur inconnue est souvent jugée désagréable (Engen et Ross, 1973 ; Hudson et Distel, 2003).

Mais ce ne sont pas que les variations interindividuelles qui peuvent influencer la dégustation ; l'environnement de la séance de dégustation, le verre utilisé ainsi que la température de l'échantillon sont des facteurs très importants qui déterminent en partie la validité des résultats.

Bien que le chai à barriques puisse être un lieu "romantique", le manque de luminosité et les odeurs, parfois de moisi, rendent généralement impossible une évaluation fiable (Jackson, 2002). Celle-ci nécessite un environnement constant et contrôlé pour rendre l'évaluation la moins dépendante possible des conditions environnementales. Les paramètres de température, d'hygrométrie et d'éclairage doivent être contrôlés pour minimiser tout risque de perturbations lors l'analyse sensorielle. La norme NF EN ISO 8589 : 2010 définit les conditions normalisées de l'analyse sensorielle qui sont : une température de 20°C, un éclairage uniforme, une isolation acoustique et un isolement des sujets entre eux pour garantir l'indépendance du jugement.

Le verre joue un rôle sur l'échange des molécules entre le liquide et l'atmosphère et donc le système olfactif. Cet échange est caractérisé par un coefficient de partage K_i exprimant le rapport des concentrations entre la phase gazeuse et la phase liquide (C_i gas en équilibre : $K_i = C_{i \text{ gas}}/C_{i \text{ liq}}$) (Fischer et Loewe-Stanienda, 1999). Comme l'espace de tête peut être modifié en fonction de la géométrie du verre, il existe des verres de l'analyse sensorielle INAO normalisés suivant la norme ISO 3591 : 1977 utilisés pour les évaluations officielles.

La température d'un liquide facilite l'évaporation des molécules dans l'atmosphère. Chaque molécule dissoute dans le liquide possède une température de vaporisation spécifique. La perception olfactive est donc modifiée en fonction de la température (Fischer et Loewe-Stanienda, 1999). Pour chaque température, le bouquet aromatique dégagé par le vin sera différent. Il est donc logique d'avoir une température de dégustation variable en fonction du vin (Peynaud et Blouin, 2006).

Des nombreux facteurs peuvent encore influencer le résultat de l'évaluation sensorielle comme par exemple la taille du jury, la fiche de l'épreuve présente au sujet ainsi que le codage, l'homogénéité, le nombre et l'ordre de présentation de l'échantillon.

2. ETUDE DES MELANGES D'ODEURS

Dans un mélange odorant, les interactions entre les composantes de celui-ci sont susceptibles de modifier l'information olfactive et de provoquer des différences perceptives en comparaison avec les composants pris séparément. Jusqu'à maintenant, les études concernant les interactions perceptives se sont surtout limitées aux mélanges binaires. Plusieurs auteurs ont proposé des classifications pour caractériser ces interactions perceptives en fonction de la qualité et de l'intensité du mélange.

2.1 CLASSIFICATION DES MELANGES BINAIRES

2.1.1 Changements qualitatifs

Berglund *et al.* (1976) ont essayé de classer les relations entre la qualité des composants d'un mélange et celle du mélange. Ils distinguent ainsi mélange homogène et mélange hétérogène.

Un mélange est dit "**homogène**" apparaît lorsque les odeurs des deux composants du mélange fusionnent complètement pour former une nouvelle odeur différente de celles des deux composants. Cependant, la **fusion complète** est un cas extrême (Moskowitz *et al.*, 1977 ; Laing et Willcox, 1983 ; Olsson, 1994).

Cette définition de Berglund *et al.* (1976) est remise en cause par Fritjers (1987) par qui l'homogénéisation n'implique pas forcément l'apparition d'une nouvelle odeur, les odeurs des composantes du mélange pouvant demeurer encore présentes. Plus encore, dans les mélanges complexes, l'odeur de certains composés peut être augmentée ou diminuée sans perdre leur identité, le mélange serait alors "partiellement homogène" : ce phénomène s'appelle **fusion partielle**. Cette définition se rapproche de celle des mélanges hétérogènes (développée ci-après) qu'homogènes. Les études portent principalement sur ce type de mélanges où les odeurs des composants sont encore présentes. Laing et Francis (1989) montrent, par exemple, que lorsque le mélange comprend plus de quatre odorants, les odeurs propres de certains composants ne sont plus perceptibles alors que d'autres le sont encore.

Un mélange est dit "**hétérogène**" apparaît lorsque les odeurs des deux composants ne se mélangent ni ne fusionnent, mais restent perceptibles distinctement dans le mélange.

Dans le cas des mélanges hétérogènes, Berglund *et al.* (1976), montrent que l'odeur du mélange est semblable au moins à celle d'un des deux composés. Il peut donc y avoir perte partielle ou totale de la perception d'un des composants. On parle alors du phénomène de *masquage* ou de *suppression* (Cain et Drexler, 1974).

2.1.2 Changements quantitatifs

En plus des interactions qualitatives, des interactions quantitatives peuvent aussi se produire entre deux odeurs en mélange. Les résultats des interactions quantitatives sont habituellement obtenus en comparant les intensités de l'odeur de chacun des composés du mélange pris séparément avec celle du mélange.

Sur la base des travaux de Cain et Drexler (1974), Berglund *et al.* (1976) proposent différentes définitions pour caractériser les interactions quantitatives en mélange homogène ou hétérogène

Dans le cas des *mélanges homogènes*, l'intensité du mélange peut être égale, plus grande ou plus faible que la somme des intensités de chacun des composés pris séparément. Ces interactions sont appelées respectivement *addition complète* ($I_m = I_1 + I_2$), *hyper-addition* ($I_m > I_1 + I_2$) ou *hypo-addition* ($I_m < I_1 + I_2$). Le symbole I_m représente les intensités du mélange (I_m) et des composés pris séparément (I_1 et I_2).

Dans le cas de l'*hypo-addition*, si l'intensité du mélange est plus grande que celles de chacune de ses composantes ($I_m > I_1$ et $I_m > I_2$), intermédiaire entre les intensités de chacune de ses composantes ($I_m < I_1$ et $I_m < I_2$) ou plus faible que celles de chacune de ses composantes pris séparément ($I_m < I_1$ et $I_m < I_2$), les termes d'*addition partielle*, de *compromis*, ou de *compensation* (soit *soustraction* selon Fritjers, 1987) sont respectivement utilisés (**Figure 5**).

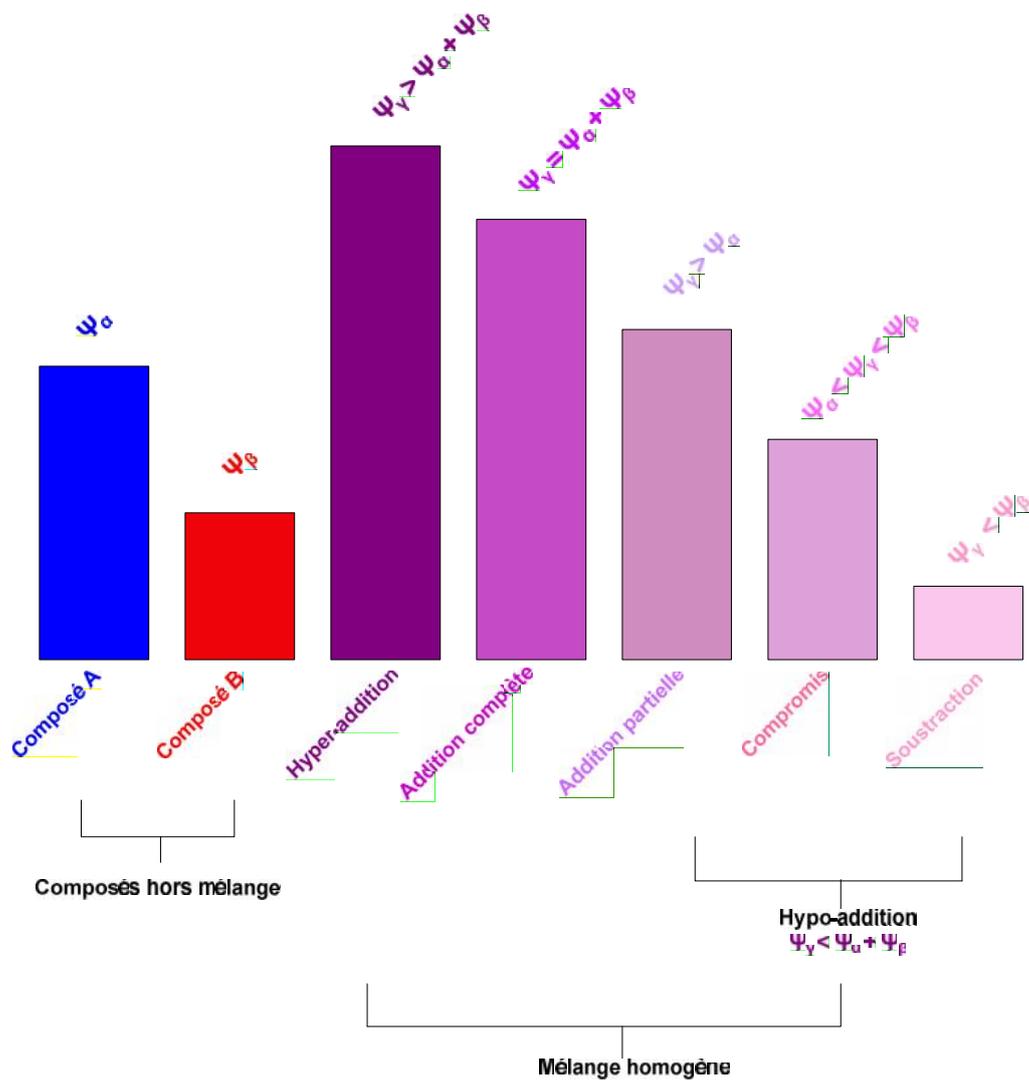


Figure 5 : Effets quantitatifs concernant les mélanges binaires dits homogènes. Ψ_A : intensité du composé A ; Ψ_B : intensité du composé B ; Ψ_Y : intensité du mélange (d'après Cain et Drexler, 1974, Berglund *et al.*, 1976 et Thomas-Danguin, 1997).

Dans le cas des *mélanges hétérogènes*, l'intensité d'un composé en mélange peut être plus grande ($\Psi_{\text{mélange}} > \Psi_{\text{dehors du mélange}}$ OU $\Psi_{\text{mélange}} > \Psi_{\text{dehors du mélange}}$), identique ($\Psi_{\text{mélange}} = \Psi_{\text{dehors du mélange}}$ OU $\Psi_{\text{mélange}} = \Psi_{\text{dehors du mélange}}$) ou plus faible ($\Psi_{\text{mélange}} < \Psi_{\text{dehors du mélange}}$ OU $\Psi_{\text{mélange}} < \Psi_{\text{dehors du mélange}}$) que l'intensité de ce même composant en dehors du mélange. Les termes de *synergisme*, d'*indépendance* et d'*antagonisme* sont respectivement utilisés (Figure 6).

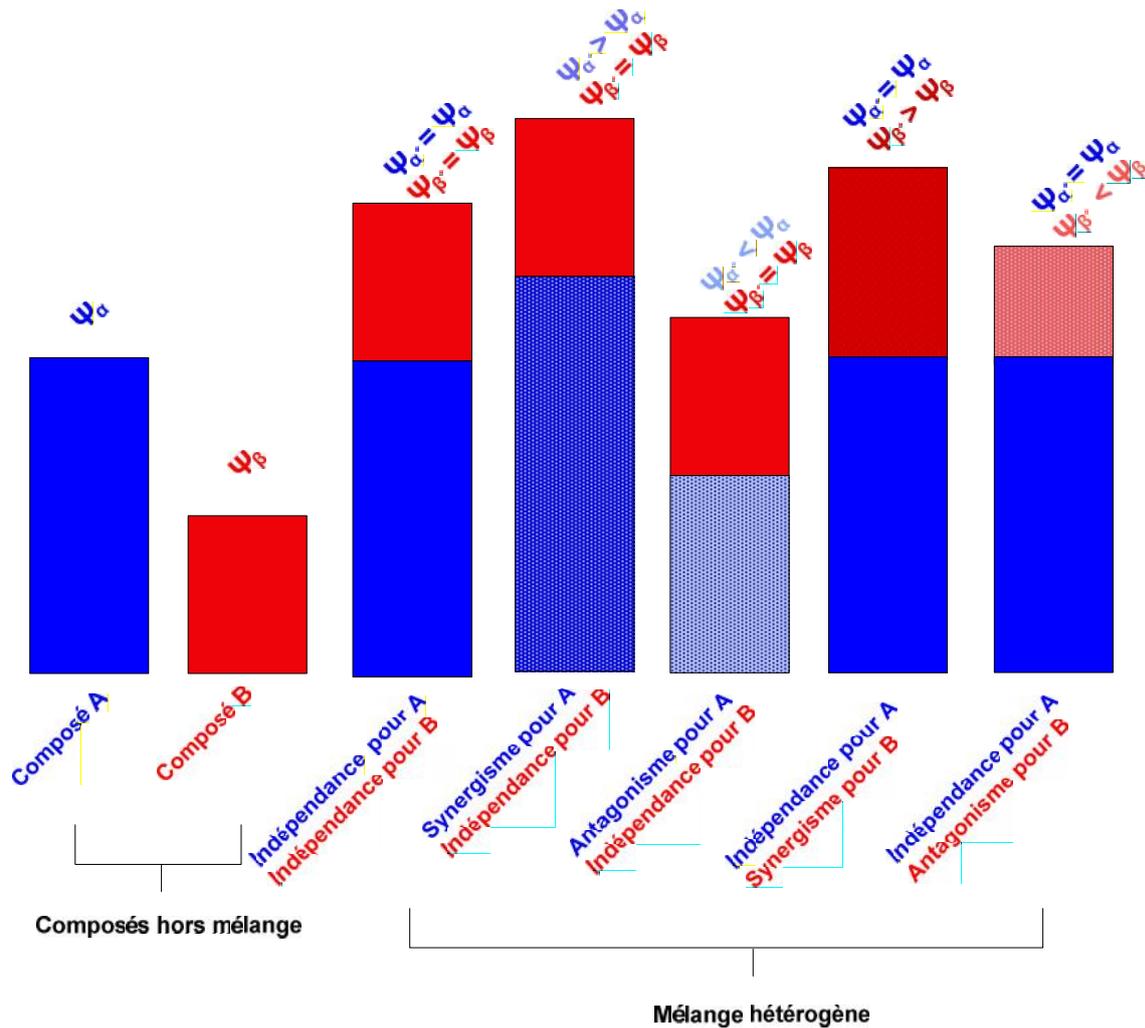


Figure 6 : Effets quantitatifs concernant les mélanges binaires dits hétérogènes. ψ_A : intensité du composé hors mélange ; ψ_B : intensité du composé hors mélange ; ψ_A' , intensité du composé dans le mélange ; ψ_B' , intensité du composé dans le mélange (d'après Cain et Drexler, 1974, Berglund *et al.*, 1976 et Thomas-Danguin, 1997).

Pour les mélanges hétérogènes, Berglund et Olsson (1993) ont introduit deux nouvelles définitions caractérisant les interactions perceptives en fonction de l'intensité des composantes hors et dans le mélange : le **niveau d'indépendance** et l'**asymétrie**. Le niveau d'indépendance indique que le processus d'addition de l'odeur ne diffère pas selon que les odeurs se trouvent à forte ou faible intensités : le mélange de deux odeurs A et B à faibles intensités conduit au même degré d'additivité que ces mêmes odeurs à de fortes intensités comme si la proportionnalité de l'intensité des odeurs respectivement dans et hors mélange

était conservée. Au contraire l'asymétrie suggère qu'un mélange entre la substance à forte intensité et la substance à faible intensité ne présente pas la même intensité qu'un mélange entre la substance à faible intensité et la substance à forte intensité. Plus tard, Olsson (1994) applique ces deux principes pour les interactions perceptives qualitatives. Certaines données bibliographiques démontrent l'existence de quelques paires d'odorants présentant une asymétrie dans la dominance d'une des deux odeurs (Cain *et al.*, 1995 ; Atanasova *et al.*, 2005) et que d'autres sont des cas de parfaite symétrie (Olsson, 1994 ; Laing *et al.*, 1984).

Comme décrit précédemment, les données bibliographiques distinguent strictement les termes d'hypo-addition, d'antagonisme et de masquage (Cain et Drexler, 1974 ; Berglund *et al.*, 1976). Néanmoins, actuellement, ces termes sont utilisés pour décrire de manière générale et non distincte la diminution de l'intensité de certains mélanges odorants. De même, bien que la bibliographie différencie strictement le terme de synergie (Berglund *et al.*, 1976) et d'hyper-addition (Cain et Drexler, 1974), ces deux termes, sont utilisés dans la littérature de manière générale et non distincte pour décrire une augmentation de l'intensité odorante. Même si les phénomènes quantitatifs et qualitatifs observés dans les mélanges binaires sont bien définis et distincts au niveau terminologie, il reste très difficile au niveau expérimental de les distinguer puisque ces phénomènes sont interdépendants.

2.2 ELEMENTS DE MODELISATION DES CARACTERISTIQUES OLFACTIVES DES MELANGES

L'objectif de la modélisation est de pouvoir prédire les effets résultant du mélange de deux ou plusieurs composés odorants. Les interactions perceptives entre composés volatils restent difficiles à prédire dans les vins, voir même dans des solutions synthétiques plus simples. Afin d'étudier et de prévoir les interactions quantitatives dans les mélanges, plusieurs modèles mathématiques, principalement applicables aux mélanges binaires, ont été développés au cours des trente dernières années (Berglund *et al.*, 1973 ; Patte et Laffort 1979 ; Frijters, 1987 ; Laffort, 1989 ; Laffort et Dravnicks, 1982 ; Thomas-Danguin et Chastrette, 2002).

Au contraire, peu d'études ont porté à la fois sur l'intensité et la qualité des mélanges odorants (Moskowitz et Barbe, 1977 ; Laing et Willcox, 1983 ; Laing *et al.*, 1984 ; Olsson, 1994). Quelques théories ont néanmoins été avancées.

Le modèle d'interaction proposé par Olsson (1994) est le seul modèle qui prédit à la fois les caractéristiques qualitatives et quantitatives d'un mélange sur la base des intensités de ses constituants pris séparément. Selon lui, l'intensité et la qualité d'un mélange peuvent être prédites à partir de l'intensité de ses composants présentés de manière isolé (Olsson, 1994). L'interaction perceptive est réduite à un ensemble de règles simples, fonctions linéaires des niveaux d'intensité et des descripteurs aromatiques (Olsson, 1998). Le **modèle d'Olsson** suggère ainsi que, par exemple, si les deux composés aromatiques d'un mélange ont des intensités approximativement égales lorsqu'ils sont considérés séparément, hors du mélange, tous deux sont perçus dans le mélange, et l'odeur de ce mélange est une combinaison de l'odeur des deux composés. Ce modèle est basé sur le **modèle d'additivité euclidien** dont la formule est rappelée ici :

$$R_{AB} = \sqrt{R_A^2 + R_B^2}$$

R_{AB} : intensité du mélange. R_A, R_B : intensité des composés A, B purs.

Concernant l'étude des interactions qualitatives, plus récemment, Atanasova *et al.* (2005) ont étudié le comportement de trois mélanges binaires de composés volatils du vin à des niveaux iso-intenses. Les résultats en désaccord avec le modèle prédictif d'Olsson, ont conduit les auteurs à développer leur **propre modèle linéaire** également basé sur les intensités des composés pris isolément et après mélange. Ces résultats témoignent les limites du modèle prédictif d'Olsson.

Concernant l'étude des interactions quantitatives, le modèle prédictif d'Olsson, tout comme d'autres modèles tendant à expliquer les phénomènes d'interactions perceptives par un ensemble de règles simples, se heurtent à la complexité de la réalité sensorielle. Même dans les mélanges binaires simples, la perception quantitative de l'arôme n'est pas linéaire et le modèle prédictif d'Olsson se heurte à de nombreux contre-exemples (Berglund *et al.*, 1973 ; Patte et Laffort, 1979 ; Laffort *et al.*, 1984 ; Laffort et Dravnieks, 1982 ; Laffort, 1989 ; Thomas-Danguin et Chastrette, 2002).

Le modèle vectoriel est un modèle qui prend en compte les possibles interactions perceptives entre les composés du mélange. L'intensité du mélange est alors calculée en fonction des intensités des composés odorants et non en fonction de leurs concentrations (Berglund *et al.*, 1973). Il n'a reçu que peu de critiques et demeure l'un des meilleurs modèles prédictifs. Le principe du modèle vectoriel est que l'intensité résultante R_{AB} correspond à la somme des vecteurs d'intensités individuelles des composantes (R_A et R_B) avec un angle α qui est caractéristique d'une paire donnée de substances.

$$R_{AB} = \sqrt{R_A^2 + R_B^2 + 2R_A R_B \cos \alpha}$$

R_{AB} : intensité du mélange. R_A, R_B : intensité des composés A, B purs. α : angle traduisant l'interaction entre les deux composés odorants en mélange.

L'inconvénient du modèle vectoriel est qu'il ne rend pas compte des effets de synergie, car il faudrait que $\cos \alpha$ soit supérieur à 1 (valeur impossible). Pour cette raison, à la suite des travaux de Berglund *et al.* (1973), Patte et Laffort (1979), ont proposé les modèles dits en **V** et en **U**, très semblables au modèle vectoriel de Berglund *et al.* (1973). Les modèles en **V** et en **U**, peuvent être considérés comme une amélioration de ce dernier en introduisant un terme d'interaction spécifique à chaque paire d'odorants. Patte et Laffort (1979) suggèrent une extension du modèle vectoriel en remplaçant par k les valeurs $\cos \alpha$ supérieures à 1.

D'autres modèles ont été ainsi développés comme le **modèle UPL** (Laffort et Dravnieks, 1982) et le **modèle UPL2** (Laffort, 1989) inspiré du modèle en U mais prenant en compte l'intensité perçue en fonction des différentes concentrations (loi de Stevens ou loi de puissance).

Tous ces modèles proposés dans la littérature définissent une intensité du mélange représentant la somme des intensités des composés, corrigée d'une interaction. Thomas-Danguin et Chastrette (2002) ont, quant à eux, proposé un modèle d'intensité de mélanges binaires, basé sur les concentrations des composés. Il s'agit du modèle MBO (mélanges binaires d'odorants) où l'intensité du mélange est calculée à partir de la somme des intensités des deux composés purs. L'intensité de chaque composé est calculée en utilisant une équation

qui permet de prendre en compte l'impact de la présence d'un composé sur la perception de l'autre composé. La variable indépendante utilisée est la concentration du composé odorant. Pourtant les liens entre concentration du stimulus et intensité perçue sont loin d'être linéaires (paragraphe **1.2.1**) (Sauvageot, 1990) suggérant les limites de ce modèle. De plus, Atanasova (2004) a démontré que le modèle MBO ne permettait pas de tenir compte des certains effets d'interactions entre des mélanges binaires.

Malgré tous ces modèles proposés dans la littérature, rien ne semble aujourd'hui permettre de décrire, et prévoir, le comportement des mélanges aussi complexes que le vin.

2.3 EXEMPLES D'INTERACTIONS PERCEPTIVES

Les études concernant les interactions perceptives se sont surtout limitées aux mélanges binaires. Dans la littérature il existe peu de travaux concernant des mélanges plus complexes (comportant plus de deux molécules) (Baker, 1963 ; Kendall et Neilson, 1966 ; Berglund, 1974 ; Moskowitz et Barbe, 1977 ; Laffort et Dravnieks, 1982 ; Laing *et al.*, 1984 ; Berglund et Olsson, 1993 ; Brossard *et al.*, 2007).

2.3.1 Effets qualitatifs

Il a été montré que les intensités relatives des composants hors mélange étaient d'une importance primordiale dans la détermination de leurs qualités dans le mélange binaire (Laing et Willcox, 1983 ; Olsson, 1994, Olsson, 1998). De plus, Laing *et al.* (1984) ont montré que l'intensité des molécules odorantes et non leur qualité détermine la contribution de chacun des composés à la qualité finale du mélange.

La plupart des données rapportées par la bibliographie concerne le cas des *mélanges hétérogènes*.

Dans le cas de mélanges de composés strictement iso-intenses, divers auteurs ont constaté que l'odeur perçue était intermédiaire entre l'odeur de chacun des odorants en dehors du mélange, idée inhérente au modèle prédictif d'Olsson (Olsson, 1994, Olsson 1998). A partir de mélanges binaires constitués de benzaldéhyde (amande), eugénol (clou de girofle), acide

propionique (vinaigre) et (-)-carvone (menthe verte), Laing *et al.* (1984) ont démontré que lorsque deux composés odorants sont d'intensités approximativement égales en dehors du mélange, l'odeur du mélange semble être intermédiaire entre les qualités de ses deux composantes, phénomène aussi soutenu par Moskowitz et Barbe (1977), Laing et Willcox (1983) et Olsson (1994). Plus récemment, Brodin *et al.* (2009), ont observé une symétrie parfaite dans le cas du mélange bourgeonal et n-butanol à des niveaux de concentration iso-intenses élevés.

Toutefois, d'autres résultats de Laing et Willcox (1983) nous invitent à relativiser ces conclusions. En effet, ces auteurs ont aussi pu constater que l'odeur du mélange de deux composés iso-intenses n'était pas toujours exactement intermédiaire entre l'odeur des deux composés pris isolément, mais semblait se rapprocher de l'un d'entre eux, évoquant un phénomène de masquage. De plus, ils ont constaté qu'il suffisait d'une petite différence d'intensité entre les deux composés étudiés (trans-2-hexénal et trans-2-décénal) pour que la qualité odorante du composé de plus forte intensité prédomine dans le mélange, ou qu'il soit le seul à être perçu. De même Cain et Drexler (1974) ont montré, dans des mélanges binaires entre la pyridine et le linalol ou l'acétate de linalyle ou l'huile essentielle de lavande que l'odeur du composé à la plus forte intensité prédomine dans le mélange et parfois qu'elle masque même complètement l'odeur du composé de plus faible intensité. Des résultats plus récents, concernant un mélange binaire, incluant à chaque fois un composé à l'arôme fruité et un composé à l'arôme boisé, indiquent que la plupart des sujets étaient incapables d'identifier les deux composés, même lorsque leur niveaux d'intensité étaient égaux (Atanasova *et al.*, 2005). Plus récemment encore, d'autres exemples de la dominance d'une odeur et du masquage d'une autre dans les mélanges binaires ont été montrés, par Brossard *et al.* (2007), pour des concentrations iso-intenses : le citral prédomine sur l'hexanal et l'hexanal prédomine sur l'oct-1-èn-3-ol. Enfin, Brodin *et al.* (2009) soulignent l'importance des intensités relatives des composés non mélangés. Pour des mélanges iso-intenses, le niveau de concentration exerce un fort effet pour le cas du bourgeonal et de l'undécenal : le bourgeonal domine à des niveaux de concentration bas et l'undécenal domine à des niveaux de concentrations élevés.

Par ailleurs, nous ne sommes pas parvenus à trouver de donnée bibliographique concernant les *mélanges homogènes*. La formation d'une nouvelle odeur (fusion complète) n'a été observée par Moskowitz *et al.* (1977) et Laing et Willcox (1983) dans aucun des mélanges binaires étudiés. Seuls quelques exemples donnés par Laing et Francis (1989) ont mis en

évidence des phénomènes de fusion partielle grâce à des tests d'identification, démontrant la disparition de l'odeur des composés dans les mélanges complexes.

2.3.2 Effets quantitatifs

L'intensité d'un mélange binaire a été l'un des premiers aspects abordé par les psychophysiciens. Les résultats obtenus par les différents auteurs montrent que la diminution de l'intensité est l'effet le plus fréquemment observé dans les mélanges odorants (Laing *et al.*, 1984 ; Derby *et al.*, 1985 ; Berglund et Olsson, 1993). En effet, rares sont les exemples où l'intensité du mélange peut être égale (addition complète) au plus grande (hyper-addition) que la somme des intensités de chacun des composés pris séparément.

La plupart des données rapportées par la bibliographie concerne le cas des *mélanges hétérogènes* mais les auteurs utilisent pour caractériser ces mélanges les terminologies pour les *mélanges homogènes*. Il reste donc très difficile de différencier la limite entre les *mélanges hétérogènes* et les *mélanges homogènes* au niveau expérimental.

Après avoir étudié 150 mélanges binaires, constitués de benzaldéhyde, d'eugénol, d'acide propionique, ou de (-)-carvone, Laing *et al.* (1984) ont constaté que l'intensité d'un mélange est inférieure à la somme des intensités des composés hors mélange mais jamais inférieure au composé de plus faible intensité (compromis) en démontrant que le composé ayant la plus forte intensité semblait diminuer l'odeur du composé ayant la plus faible intensité. De même, Cain et Drexler (1974) ont observé que l'intensité dans des mélanges binaires entre la pyridine et le linalol ou l'acétate de linalyle ou l'huile essentielle de lavande n'était jamais aussi élevée que la somme des intensités de ces composés, mais plutôt comprise entre les intensités de chaque composante (compromis). Cependant, contrairement à Laing *et al.* (1984), ces auteurs ont montré que c'est le composé ayant la plus faible intensité qui semble diminuer l'odeur du composé ayant la plus forte intensité. D'autres cas d'hypo-addition ont été rapportés par Berglund et Olsson (1993) pour des mélanges binaires (acrylate d'éthyle / pyridine, acrylate d'éthyle / acétone, pyridine / acétone) où l'intensité du mélange est inférieure à la somme des intensités des composés non mélangés et même inférieure au composé de plus faible intensité (soustraction). De plus, ces auteurs ont constaté que le composé ayant la plus faible intensité semblait diminuer l'odeur du composé ayant la plus

forte intensité. De même, Moskowitz *et al.* (1977) et plus récemment Thomas-Danguin et Chastrette (2002) ont montré que la présence d'acétate d'heptyle à faible intensité réduisant l'intensité du mélange exerçant une forte suppression de l'odeur du salicylate d'éthyle. En outre, Cain (1975) avait constaté que la présence de n-propanol à faible intensité réduisait celle du butyrate d'amyle d'un facteur proche de 2.

L'addition complète et l'hyper-addition sont limitées à quelques cas très exceptionnels. Ferreira (2012), après avoir synthétisé les résultats de 520 mélanges binaires différents pour près de 200 paires différentes de substances odorantes décrites dans la littérature, a constaté seulement huit cas d'hyper-addition et 14 cas d'addition complète. Parmi les 14 mélanges présentant l'addition complète, 13 correspondent à des mélanges de composés de faible intensité et un seule appartient à un mélange de composés à des intensités supraliminaires (acide hexanoïque et disulfure de diméthyle : Moskowitz et Barbe, 1977). Dans ce dernier cas, les auteurs expliquent la création d'une nouvelle odeur fortement désagréable rappelant le camembert pourri.

Les exemples d'addition complète, concernent des mélanges binaires (Berglund, 1974 ; Lawless, 1977 ; Laing *et al.*, 1984 ; Berglund et Olsson, 1993 ; Olsson (1994) ; Cain *et al.*, 1995) ainsi que des mélanges ternaires (Cain et Drexler, 1974 ; Patte et Laffort, 1979) dont les composés pris séparément hors du mélange sont iso-intenses, démontrant une bonne adaptation au modèle d'additivité euclidienne.

Enfin, de rares cas d'hyper-addition dans des mélanges binaires ont été observés par Atanasova *et al.* (2004) et par Laing *et al.* (1984) pour des composés présents à de faibles intensités.

Dans un exemple plus proche du vin, Ribéreau-Gayon *et al.* (1975) a montré l'existence de phénomènes de synergie dans un mélange complexe entre composés terpéniques, tous caractérisés par des arômes floraux/fruités, un mélange constitué de 8 composés terpéniques présente ainsi un seuil de perception inférieur au seuil de perception du plus faible des composés terpéniques du mélange.

2.4 SIEGE DES INTERACTIONS PERCEPTIVES

Selon Berglund, *et al.* (1976) les interactions perceptives peuvent avoir différentes origines. Ces auteurs proposent quatre niveaux d'interactions possibles. Un mélange de composés odorants peut ainsi impliquer des réactions chimiques et physicochimiques simples ou des interactions plus complexes au niveau du système nerveux central.

Le **premier niveau d'interaction** (niveau présensoriel) implique des interactions chimiques ou physico-chimiques entre les composés du mélange. Ce type d'interaction peut se produire soit en solution soit à l'état gazeux, par exemple lors de la diffusion dans la cavité nasale.

Le **deuxième niveau d'interaction** (niveau sensoriel périphérique) implique les interactions qui ont lieu au niveau des récepteurs, par exemple deux substances différentes peuvent exciter des récepteurs communs modifiant l'activité de ceux-ci (Holley *et al.*, 1974 ; Brodin *et al.*, 2009 ; Chaput *et al.*, 2012). De nombreuses théories suggèrent que les interactions au niveau des récepteurs jouent un rôle majeur dans le traitement de la qualité de l'odeur (Jones et Jones, 1953).

Le **troisième niveau d'interaction** (interactions électrophysiologiques) s'accomplit au niveau périphérique du système nerveux. Les signaux provenant d'un récepteur particulier, en route vers le bulbe olfactif, peuvent interagir avec les signaux provenant des autres récepteurs. Des interactions se produisent par des convergences de nombreux neurones primaires vers un glomérule donné ou par des interconnexions latérales entre les neurones (MacLeod, 1971 ; Moulton et Tucker, 1964 ; Valova *et al.*, 2007).

Le **quatrième niveau d'interaction** (interactions centrales) se déroule dans le système nerveux central, où le niveau d'excitation, d'attention, et d'autres facteurs peuvent modifier l'information sensorielle (Le Berre *et al.*, 2008).

Le traitement olfactif et les origines des interactions perceptives relèvent de problèmes complexes mais l'analyse sensorielle ne permet que d'étudier la perception finale des sujets.

3. L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES

3.1 SPECIFICITE ET REALITE SENSORIELLE

Dans la littérature traitant du vin existe une idée préconçue forte qui veut que les descripteurs olfactifs fruités, de type fruits rouges et fruits noirs, soient caractéristiques des vins rouges.

L'Encyclopédie Larousse du Vin illustre ce phénomène en distinguant les descripteurs des vins blancs qui tendent vers des arômes d'agrumes et d'autres fruits tels que pêche, poire, abricot, pomme, groseille à maquereau, litchi, alors que les vins rouges évoquent plutôt les fruits rouges et noirs comme cerises rouges et noires, prune, prune de Damas, cassis, groseille, mûre, framboise et fraise (Larousse Encyclopedia of Wine, 1998). De nombreux auteurs ont contribué à la caractérisation des composés aromatiques responsables de nuances fruitées des vins rouges (Aznar *et al.*, 2001 ; Campo *et al.*, 2007 ; Culleré *et al.*, 2004 ; Kotseridis et Baumes, 2000 ; Moio et Etiévant, 1995) sans pouvoir mettre en évidence l'existence de molécules aromatiques "clés" pouvant être responsables de cette typicité fruitée.

Paradoxalement, une vive controverse a existé dans la littérature sur la réalité d'une expression fruitée spécifique aux vins rouges. Cette absence de consensus porte essentiellement sur le fait que les évaluateurs sont connus pour être fortement influencés par des signaux visuels comme démontré par plusieurs auteurs (Herz et Engen, 1996 ; Gilbert *et al.*, 1996 ; Stillman, 1993 ; Lawless et Heymann 1998 ; Zellner et Whitten, 1999 ; Morrot *et al.*, 2001 ; Piombino *et al.*, 2003 ; Ballester *et al.*, 2009). Depuis, Pineau (2007) a pu enfin montrer l'existence d'un arôme fruité spécifique aux vins rouges par l'intermédiaire de dégustations affranchies de toute subjectivité liée à la couleur des vins. Ces travaux ont pu également conduire à la délimitation d'un espace sensoriel olfactif des vins rouges de Bordeaux, tel que défini par Ballester (2004) correspondant à une typicité olfactive marquée par des notes de "fruits noirs" et de "fruits confiturés".

Toutefois, les travaux de Pineau (2007) démontrent qu'une composante au moins de l'arôme fruité des vins rouges est le reflet des interactions perceptives entre divers composés aromatiques, en particulier des esters, même présents à des concentrations très inférieures à leur seuil de perception (Ferreira *et al.*, 2002 ; Segurel *et al.*, 2004 ; Escudero *et al.*, 2007 ; Pineau *et al.*, 2009).

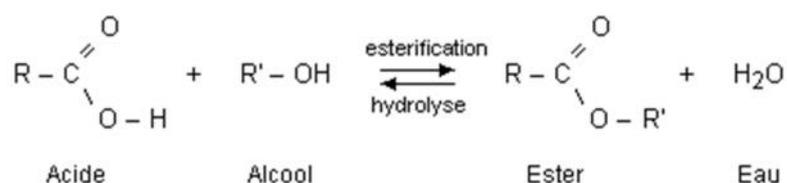
3.2 COMPOSES SUSCEPTIBLES D'INTERVENIR DANS L'ARÔME FRUITÉ DES VINS ROUGES

Les études portant sur le caractère fruité des vins rouges mettent en évidence un certain nombre d'esters aux arômes fruités. En plus des esters, il est établi que d'autres substances volatiles peuvent également participer à la note fruitée des vins rouges, via notamment des effets synergiques, comme certains composés d'origine variétale tels que le Furanéol[®] et l'Homofuranéol[®], certains norisoprénoïdes à 13 atomes de carbone, lactones ou encore certains composés soufrés d'origine variétale mais aussi fermentaire.

3.2.1 Les esters

On considère les esters, notamment les esters éthyliques d'acides gras et les acétates d'alcools supérieurs, comme la famille principale qui marque l'arôme fruité des vins jeunes (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Ils sont présents également dans de nombreux produits fermentés (Sumbly *et al.*, 2010).

L'estérification correspond à la réaction d'une fonction acide avec une fonction alcool suivie de l'élimination d'eau. Cette réaction est réversible puisque l'ester produit peut être hydrolysé pour donner à nouveau l'alcool et l'acide mis en jeu.



Lorsque le système est en équilibre, il existe une relation constante entre les concentrations des substances présentes, régie par la loi d'action de masse. Le grand nombre d'alcools et d'acides du vin mène à un grand nombre d'esters possibles. Ces composés sont listés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Principaux esters à caractère fruité identifiés dans les vins rouges

Composé	Descripteur aromatique	Seuil de perception (µg/L)
<i>Esters d'origine variétale : cinnamates et anthranilates</i>		
Cinnamate d'éthyle	cerise, figue, fruité, floral	1,1 ⁵
Dihydrocinnamate d'éthyle	fruité, ananas, amande	1,6 ⁵
Anthranilate d'éthyle	fruité, mandarine, camphré	
Anthranilate de méthyle	fraise des bois, mandarine, camphré	
<i>Esters éthyliques d'acides gras à chaîne linéaire</i>		
Propanoate d'éthyle	solvant, fraise mure	2100 ⁶
Butanoate d'éthyle	kiwi mure, fraise, mure, fromage	20 ⁵ , 600 ⁶
Hexanoate d'éthyle	ananas, fruit, pomme	14 ⁵ , 440 ⁶
Octanoate d'éthyle	cireux, peau de pomme, fruité	960 ⁶ , 580 ⁷
Décanoate d'éthyle	cireux, savon, fruité	200 ⁵
<i>Esters éthyliques hydroxylés</i>		
3-hydroxybutanoate d'éthyle	fruité, fraise	1800 ⁶ 1000 ^{6*}
4-oxopentanoate d'éthyle	fraise, pomme	350 ⁶
2-hydroxyhexanoate d'éthyle	mûre	2400 ⁶
6-hydroxyhexanoate d'éthyle	fruité	1200 ⁶
<i>Esters acétiques d'alcools supérieurs (acétates d'alcools supérieurs)</i>		
Acétate d'éthyle	cireux, savon, fruité	12270 ¹ , 120000 ⁹
Acétate de propyle	solvant, fruité	65000 ¹⁰
Acétate de 2-méthylpropyle	solvant, fruité	1600 ² , 2100 ⁶
Acétate de butyle	solvant, fruité	1830 ⁶ , 1800 ⁷
Acétate de 3-méthylbutyle	banane	30 ⁵ , 860 ⁶
Acétate d'hexyle,	poire, ananas, fruité	670 ⁶
Acétate d'octyle	cireux, fruité	800 ⁶
Acétate de 2-phényléthyle	floral, rose, vineux	250 ³ , 6500 ⁶
<i>Esters éthyliques d'acides gras à chaîne carbonée courte et ramifiée</i>		
2-méthylpropanoate d'éthyle	fraise, kiwi, fruité, solvant	15 ⁵ , 5600 ⁶
2-méthylbutanoate d'éthyle	fruité, kiwi	18 ⁵ , 1890 ⁶
3-méthylbutanoate d'éthyle	fromage, fruité	3 ⁵
Phénylacétate d'éthyle	floral, mimosa, fruité, olive, miel	73 ⁸
<i>Ester hydroxylé et ramifié</i>		
2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle	mûre	300 ⁴
<i>Esters d'acides fixes</i>		
Succinate de diéthyle	fruité	200000 ⁷
Lactate d'éthyle	fruité, lacté	154000 ⁷

¹eau (van Gemert et Nettenbreijer, 1977) ; ²solution hydroalcoolique (10 %) avec 5 g/L d'acide tartrique à pH 3,2 (Aznar *et al.*, 2003) ; ³solution hydroalcoolique (10 %) (Guth, 1997) ; ⁴solution hydroalcoolique (12 %) pH 3,5 ajusté avec d'acide tartrique (Falcao *et al.*, 2012) ; ⁵solution hydroalcoolique (11 %) avec 7 g/L glycérol et 5 g/L acide tartrique, pH 3,4 ajusté avec NaOH 1M (Ferreira *et al.*, 2000) ; ⁶vin rouge désaromatisé (Pineau, 2007) ; ^{6*}solution hydroalcoolique (12 %) avec 4 g/L d'acide tartrique à pH 3,5 (Pineau, 2007) ; ⁷vin (Etievant, 1991) ; ⁸vin (Tat *et al.*, 2007) ; ⁹vin (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006) ; ¹⁰solution hydroalcoolique (14 %) (Moreno *et al.*, 2005).

La grande majorité des esters se retrouve dans tous les vins mais leurs teneurs peuvent varier dans des proportions considérables. Ces différences de concentrations relatives jouent un rôle essentiel dans la perception de la note fruitée des vins rouges (López *et al.*, 1999).

Dans le vin, les esters ont deux origines distinctes : les processus fermentaires entraînant des estérifications de nature enzymatique (via des activités alcool acyltransférase, estérase et lipase) et le vieillissement du vin où se déroulent des estérifications chimiques. Un même ester peut être synthétisé selon ces deux origines (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Pendant l'élevage, hydrolyse d'une part et estérification chimique d'autre part vont ainsi modifier profondément la nature et la quantité des esters par des phénomènes complexes et difficiles à quantifier. La température et le pH du vin, largement étudiés, influencent fortement ces évolutions et le bouquet très fruité des vins jeunes (Marais, 1978 ; Marais et Pool, 1980).

3.2.1.1 Les esters éthyliques des acides gras à chaîne linéaire

Il s'agit essentiellement des esters éthyliques des acides butanoïque, hexanoïque, octanoïque, décanoïque et à un niveau plus faible de l'acide dodécanoïque. A ces esters peut s'ajouter le propanoate d'éthyle bien que l'acide propanoïque ait un nombre de carbone impair et ne soit pas un acide gras. Considérés individuellement, leurs odeurs sont fruitées et variées, faiblement typées, et leurs notes se rapprochent des odeurs savonneuses lorsque le nombre d'atomes de carbone augmente (Jackson, 1994). Leurs seuils de perception varient de quelques dizaines à quelques centaines de µg/L selon les esters mais aussi selon les différentes données bibliographiques. Selon Pineau *et al.* (2009) par le biais d'interactions perceptives toutes particulières, le butanoate, l'hexanoate et l'octanoate d'éthyle ont une part certaine dans la note de fruits rouges et fruits frais et le propanoate d'éthyle contribue à la note de fruits noirs et fruits confiturés des vins rouges.

Ces esters sont formés en grande partie durant la fermentation alcoolique et sont issus du métabolisme levurien (Saerens *et al.*, 2006 ; Saerens *et al.*, 2008). La synthèse de ces esters est très dépendante de la souche de levure ainsi que de la disponibilité des acides gras précurseurs, de la température de la fermentation alcoolique, la composition nutritive du milieu (éléments azotés, particules solides du moût), le niveau d'oxygène et la teneur en acides gras insaturés et en stérols (Saerens *et al.*, 2006 ; Saerens *et al.*, 2008 ; Sumby *et al.*,

2010). La formation de ces esters est favorisée lorsque la fermentation est lente et difficile : absence d'oxygène, basse température et moût clarifié (Bertrand, 1983 ; Dubois, 1993). Les esters éthyliques d'acides gras disparaissent inévitablement avec le temps, par hydrolyse chimique et/ou enzymatique, de façon accélérée à température élevée. Cela est d'autant plus rapide que la chaîne carbonée est longue, car l'effet inductif sur la fonction carbonyle est plus marqué, ce qui favorise l'hydrolyse de l'ester. Ces composés ne sont plus perceptibles dans vins vieux (Peynaud et Blouin, 2006).

3.2.1.2 Les esters éthyliques hydroxylés

Parmi les esters éthyliques hydroxylés certains sont présents à des niveaux très variables. Il s'agit du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, du 4-hydroxybutanoate d'éthyle, du 2-hydroxyhexanoate d'éthyle, du 4-oxopentanoate d'éthyle (lévulinate d'éthyle) et du 6-hydroxyhexanoate d'éthyle. Ils évoquent des descripteurs fruités qui rappellent à fois l'odeur de fraise et de mûre ou de pomme. Leurs teneurs dans les vins (quelques $\mu\text{g/L}$) restent loin de leur seuil, ce qui exclut la participation directe de ces composés à l'arôme du vin. Le 3-hydroxybutanoate d'éthyle peut participer à la note fruitée des vins rouges (groseille, framboise, fraise) via des interactions perceptives (Pineau, 2007). De même, le 4-hydroxybutanoate, le 6-hydroxyhexanoate d'éthyle et le 4-oxopentanoate d'éthyle se retrouvent à des teneurs inférieures à leur seuil de perception (Pineau, 2007). L'origine du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, du 6-hydroxyhexanoate d'éthyle et du lévulinate d'éthyle n'a jamais été étudiée de façon exhaustive mais il semblerait qu'ils soient présents à des teneurs plus élevées dans les vins rouges que dans les vins blancs. Absents des moûts leur origine est fermentaire et l'implication de précurseurs pelliculaires est très probable (Pineau, 2007). Le 4-hydroxybutanoate d'éthyle est également présent dans les vins, à des teneurs entre 0,5 et 5 mg/L mais ni son pouvoir odorant ni son impact sur l'arôme ne sont disponibles dans la littérature. Le 2-hydroxyhexanoate d'éthyle présente un seuil de 2,4 mg/L , mais ses teneurs n'ont, à notre connaissance, jamais été déterminés dans le vin.

3.2.1.3 Les esters éthyliques d'acides gras à chaîne carbonée courte et ramifiée

Les esters éthyliques d'acides gras à chaîne carbonée courte et ramifiée sont principalement des esters éthyliques de l'acide 2-méthylpropanoïque, 2-méthylbutanoïque et 3-méthylbutanoïque. Le phénylacétate d'éthyle (ester éthylique de l'acide phénylacétique) n'est pas un ester d'acide gras ramifié mais a la même origine dans le vin. Le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle est à la fois un ester éthylique hydroxylé et ramifié.

Les 2-méthylpropanoate d'éthyle, 2-méthylbutanoate d'éthyle et 3-méthylbutanoate d'éthyle pris isolément présentent une odeur fruitée de fraise et de kiwi à laquelle s'ajoutent quelques nuances de solvant et de fromage évoquant les odeurs butyriques, tandis qu'une odeur plus florale (mimosa) rappelant aussi le miel caractérise le phénylacétate d'éthyle. Percevoir directement ces esters dans les vins n'est probablement pas évident, tant leurs teneurs et leurs seuils de perception sont bas, mais grâce aux effets de synergie leur participation active à la note fruitée semble avérée (Escudero *et al.*, 2007 ; Pineau, 2007). Selon Pineau (2007) le 2-méthylpropanoate d'éthyle et le 2-méthylbutanoate d'éthyle contribuent à la note de fruits noirs et fruits confiturés perçue dans l'arôme des vins rouges.

Le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle a été mis en évidence par Campo *et al.* (2006) dans de vieux Madère et certains Xérès. Plus récemment, il a aussi été identifié dans les vins rouges secs, à une concentration moyenne d'environ 400 µg/L, par Falcao *et al.* (2012) qui ont observé ses notes marquées de mûre. Selon ces auteurs, les teneurs en 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle étaient généralement plus élevées dans les vins rouges que dans les vins blancs du même âge (environ 200%), et que les teneurs les plus élevées se retrouvaient dans les millésimes les plus anciens. Lorsque nous avons débuté nos travaux, ni son impact sur l'arôme fruité des vins ni ses origines n'avaient en revanche été étudiés.

D'une manière générale, les teneurs en ces esters augmentent au cours du vieillissement du vin (Ferreira *et al.*, 2001 ; Diaz-Maroto *et al.*, 2005).

3.2.1.4 Les acétates d'alcools supérieurs

Les acétates d'alcools supérieurs sont les esters formés par l'acide acétique et les alcools supérieurs (autrement dit ceux qui ont un nombre d'atomes de carbone plus élevé que

l'éthanol). Il s'agit principalement de l'acétate de propyle, l'acétate d'isobutyle (acétate de 2-méthylpropyle), l'acétate de butyle, l'acétate d'isoamyle (acétate de 3-méthylbutyle), l'acétate d'hexyle, l'acétate d'octyle et l'acétate de 2-phényléthyle. Ils possèdent des odeurs un peu plus lourdes que les esters éthyliques et en quantité élevée, ils peuvent masquer l'arôme variétal du vin comme décrit pour l'acétate d'isoamyle par Ribéreau-Gayon *et al.* (2006).

Comme les esters éthyliques d'acides gras, ces esters qui sont produits en grande majorité par les levures au cours de la fermentation alcoolique, sont hydrolysés au cours du vieillissement du vin (Sumbly *et al.*, 2010).

3.2.1.5 Les esters d'acide fixes

Les caractéristiques organoleptiques des vins ne peuvent être imputées que très partiellement aux esters d'acide fixes que l'estérification des principaux acides organiques du raisin (acide tartrique, acide malique, acide citrique) a formé au cours du vieillissement. Le succinate de diéthyle, présent dans les vins à des teneurs de plusieurs dizaines de milligrammes par litre, est issu de la di-estérification de l'acide succinique. Son origine peut être l'activité des levures et des bactéries lactiques mais demeure principalement l'estérification chimique au cours du vieillissement du vin. Son seuil de perception, autour de 200 mg/L, indique qu'il ne joue pas de rôle direct dans l'arôme des vins (Boido *et al.*, 2009).

Enfin, un autre ester d'acide fixe, le lactate d'éthyle peut être synthétisé au cours de la fermentation alcoolique, à des concentrations de l'ordre de 5 à 10 mg/L, mais la synthèse enzymatique du lactate d'éthyle la plus importante intervient lors de la fermentation malolactique jusqu'à des teneurs de 40 à 60 mg/L (Boido *et al.*, 1999). Cet ester éthylique, typique de la fermentation malolactique, possède un faible pouvoir odorant, avec un seuil de perception élevé d'environ 150 mg/L dans le vin. Sa contribution à la note fruitée des vins n'a jamais été étudiée, même si des auteurs l'ont parfois évoquée (Boido *et al.*, 1999 ; Gambaro *et al.*, 2001 ; Lloret *et al.*, 2002).

3.2.1.6 Les cinnamates et anthranilates

Le cinnamate d'éthyle, le dihydrocinnamate d'éthyle, l'anthranilate d'éthyle et l'anthranilate de méthyle, parce qu'ils font partie des rares esters d'origine variétale, ont une place à part dans la famille des esters du vin (Loscos *et al.*, 2007). Ugliano et Moio (2008), proposent une voie de formation de ces composés à partir de réactions acido-catalysées au cours de la fermentation alcoolique impliquant des précurseurs variétaux. L'odeur des cinnamates est décrite par les termes "cerise", "figue", "fraise", "fruits rouges", alors que celles des anthranilates est un peu plus pharmaceutique, avec des nuances de "fraise des bois". L'odeur particulièrement florale des vins de cépages hybrides ainsi que de ceux issus de *Vitis labrusca* est marquée par l'anthranilate d'éthyle et l'anthranilate de méthyle (Nelson *et al.*, 1977, Acree *et al.*, 1993 ; Christoph *et al.*, 1999). Le cinnamate d'éthyle ainsi que le dihydrocinnamate d'éthyle ont aussi été détectés dans des vins de Pinot Noir (Moio et Etievant, 1995). Cependant les vins concernés n'en contiennent que très peu (de quelques centaines de ng/L à quelques µg/L) et cette teneur ne dépasse pas leurs seuils de perception, eux-même relativement bas. La participation de ces esters, notamment les cinnamates, à la note fruitée des vins rouges pourrait se faire de façon synergique (Pineau *et al.*, 2007). Versini *et al.* (1984) avait même émis l'hypothèse que la note fraise/framboise des vins de macération carbonique pouvait être liée au cinnamate d'éthyle.

3.2.2 Les furanones : Furanéol[®] et Homofuranéol[®]

Deux composés furaniques semblent potentiellement importants dans l'arôme fruité des vins rouges : le furanéol[®] (2,5-diméthyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone), caractérisé par une odeur de caramel et de fraise et l'homofuranéol[®] (2-éthyl-5-méthyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone), caractérisé par une odeur de caramel et de brûlé. Le furanéol, d'abord identifié dans les vins de *Vitis labrusca* (Rapp *et al.*, 1980) semblait caractériser les vins d'hybrides, comme le Noah (Rapp *et al.*, 1980 ; Guedes de Pinho et Bertrand, 1995) mais il a également été mis en évidence dans des cépages de *Vitis vinifera*. Il a en effet été identifié comme marqueur de l'arôme des vins de Merlot associé à l'intensité de la note de confiture de fraise (Kotseridis, 1999). L'homofuranéol[®] est également un composé volatil important des vins de Merlot et Cabernet Sauvignon (Kotséridis, 1999). Leurs concentrations peuvent dépasser leur seuil de

perception respectivement de 37 µg/L (furanéol[®]) et 10 µg/L (homofuranéol[®]) (Kotseridis, 1999). Ces composés pourraient être potentiellement impliqués dans les variations de notes de fruits rouges (Kotseridis, 1999 ; Piombino *et al.*, 2003 ; Culleré *et al.*, 2004). Des tests d'omission pratiqués en solutions modèles montrent qu'existe une action synergique du furanéol[®] et de l'homofuranéol[®] (Ferreira *et al.*, 2002). Les voies de formation du furanéol[®] et de l'homofuranéol[®], absents de mout de raisin (Kotseridis, 1999), ne sont pas connues.

3.2.3 Les norisoprénoïdes à 13 atomes de carbone

La -damascénone, d'abord isolée à partir d'huile de rose bulgare par Demole *et al.* (1970), est plus tard identifiée dans les vins (Schreier *et al.*, 1974). Elle présente une note aromatique à la fois florale, fruitée et épicée avec des notes particulières de pommes cuites, de tabac et de miel (Pineau *et al.*, 2007). Elle est caractérisée par une grande diversité de seuils d'odeur, en fonction de la matrice utilisée. Les données bibliographiques s'accordent sur un seuil olfactif très bas dans l'eau compris entre 2 et 9 ng/L (Bayonove *et al.*, 1998 ; Buttery *et al.*, 1990), avec 2 ng/L le plus souvent utilisé en tant que valeur de référence (Kotseridis *et al.*, 1999b). Son seuil olfactif dans une solution hydroalcoolique (10-12%, v/v, mélange eau/éthanol), également très faible, est d'environ 50 ng/L (Kotseridis *et al.*, 1999b ; López *et al.*, 2002 ; López *et al.*, 2003), tandis que les valeurs dans le vin varient considérablement, allant de 4 (Sabon *et al.*, 2002) à environ 7 µg/L (Kotseridis *et al.*, 1999a ; Kotseridis et Baumes 2000). Un rôle remarquable semble joué par la -damascénone dans l'expression du caractère fruité des vins. Elle contribuerait activement aux effets synergiques influençant l'arôme fruité des vins rouges, en particulier par des interactions perceptives particulières avec des esters (Escudero *et al.*, 2007 ; Pineau *et al.*, 2007). Selon la démonstration de Pineau *et al.*, 2007, l'odeur fruitée du cinnamate d'éthyle peut être rehaussée par la présence de la -damascénone.

L' - et la -ionone ont une odeur plus florale que la -damascénone avec respectivement des nuances de framboise fraîche et des notes marquées de violette. Leurs seuils de perception sont bas, de l'ordre de 400 ng/L pour l' - et 90 ng/L pour la -ionone et dépendent fortement de la matrice, comme dans le cas de la -damascénone (Etievant et Bayonove, 1983 ; Buttery *et al.*, 1997 ; Kotseridis, 1999). Cependant, les ionones, notamment la -ionone, sont certainement présentes à des concentrations très proches de leur seuils de perception dans les

vins rouges (Kotseridis, 1999). L'addition de faibles concentrations de -damascénone et -ionone dans le mélange des esters a provoqué une nette augmentation de la note fruitée, indiquant que ces composés pourraient aussi participer à l'arôme fruité à travers des interactions perceptives (Escudero *et al.*, 2007).

3.2.4 Les lactones

Les lactones sont des composés largement présents dans les aliments y compris le vin. Les - et -lactones, sont caractérisés par des notes fruitées notamment de pêche, d'abricot et de noix de coco (Dufossé *et al.*, 1994). Les teneurs en lactones des vins sont inférieures à leurs seuils de perception mais cet écart est relativement faible pour certaines d'entre elles comme la -nonalactone par exemple (Ferreira *et al.*, 2004). Cette dernière pourrait avoir une responsabilité importante dans la note fruitée des vins rouges évolués, vu l'augmentation de sa concentration au cours de vieillissement (Ferreira *et al.*, 2004).

Leur contribution à la note fruitée des vins rouges n'a pas été explicitement étudiée mais la différence significative observée pour l'omission d'un mélange de lactones à des reconstitutions aromatiques complexes (Loscos *et al.*, 2007) rend probable la participation de ces composés à l'expression fruitée de certains vins.

3.2.5 Les terpénols

Les composés terpéniques libres les plus importants dans le raisin sont des monoterpénols. On les rencontre en quantité relativement importante dans les variétés muscatées où ils participent en grande partie à la typicité des vins (Boidron et Torrès, 1982). La présence de linalol est aussi constatée dans les vins rouges non muscatés, mais à des teneurs très largement inférieures à celles rencontrées dans les vins muscatés (quelques µg/L contre plusieurs centaines de µg/L), et bien en dessous de son seuil de perception avec des teneurs variant en fonction du cépage (Ferreira *et al.*, 2000 ; Sabon *et al.*, 2002). Ce composé présente une odeur qui rappelle le "muscat" mais aussi l'arôme des grains de coriandre avec une note à la fois florale et fruitée ; néanmoins à notre connaissance, son impact organoleptique sur l'arôme des vins rouges n'a pas été étudié.

3.2.6 Les composés soufrés

Le sulfure de diméthyle ou diméthyle sulfure (DMS) est un composé soufré léger connu dans une grande variété de produits alimentaires dont le vin. Il présente un seuil de perception de 27 µg/L dans le vin rouge (Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996). A la fin de la fermentation alcoolique il est présent à des teneurs relativement basses - généralement très inférieures à son seuil de perception - mais il peut atteindre des concentrations élevées au cours du vieillissement en bouteille de certains vins (Marais, 1979 ; de Mora *et al.*, 1986 ; de Mora *et al.*, 1993 ; Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996 ; Anocibar-Beloqui, 1998 ; Ségurel *et al.*, 2004 ; Loscos *et al.*, 2008).

Selon Anocibar-Beloqui *et al.* (1996) dans certains vins jeunes une addition de DMS portant sa teneur au dessus du seuil de perception confère des notes cassis et framboise. Ces observations ont été vérifiées dans des vins de Grenache et de Syrah par Segurel *et al.* (2004). Escudero *et al.* (2007) ont évoqué un rôle d'exhausteur d'arôme fruité joué par le DMS en observant que bien que 10 µg/L de ce composé n'aient pas pu être directement perçus dans du vin désaromatisé, ces teneurs conféraient des notes "sweet-fruity" ou d'olives vertes dans des mélanges plus complexes. Dans les vins plus âgés et particulièrement dans ceux élevés en fût, l'ajout de DMS peut entraîner l'apparition des nuances odorantes truffe ou de foin et quand sa concentration est trop élevée une odeur d'olive verte peu agréable se manifeste (Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996). Les résultats de Ségurel *et al.* (2004) des vins de Grenache et de Syrah confirment l'apparition de notes analogues du type "olive noire" et "truffe".

Les études menées jusqu'à présent ont aussi permis de mettre en évidence la présence de divers thiols volatils dans les vins rouges dont le 3-sulfanylhexanol (3SH) qui semble être le plus impliqué dans les arômes fruités (Bouchilloux *et al.*, 1998 ; Tominaga *et al.*, 1998a ; Blanchard, 2000). Sa présence détectée d'abord dans les vins blancs, est aussi confirmée dans ceux issus de nombreux cépages noirs (Grenache, Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet-Franc) (Bouchilloux *et al.*, 1998 ; Blanchard, 2000 ; Ferreira *et al.*, 2002). Le 3-sulfanylhexan-1-ol (3SH) est présent sous forme de deux énantiomères ; la forme R évoquant le zeste de pamplemousse et la forme S avec des notes de fruits de la passion ; leurs seuils de perception olfactive sont respectivement de 50 ng/L et 60 ng/L en solution hydroalcoolique (Tominaga *et al.*, 2006). Dans les vins rouges, le caractère fruits rouges est plutôt accentué par sa présence, mais difficile à expliciter (Ferreira *et al.*, 2002). Au moment de la fermentation

alcoolique, le métabolisme de la levure libre le 3SH, absent du raisin, sous l'action du métabolisme de la levure, le point de départ étant des précurseurs non-volatils inodores, cysteinylés ou glutathionylés (Tominaga *et al.*, 1998b ; Peyrot des Gachons *et al.*, 2002). La présence du précurseur de ce thiol volatil (S-3-(hexan-1-ol)-L-cystéine) a été formellement démontrée dans le moût de Cabernet-Sauvignon (Bouchilloux *et al.*, 1998). Un grand nombre de thiols a été identifiés dans les vins rouges mais il existe encore peu de données sur l'impact organoleptique de ces composés sur l'arôme de ces vins.

Néanmoins les travaux de Pineau (2007) laissent à penser que les thiols volatils et les composés soufrés, d'une manière plus générale, ne sont pas véritablement impliqués dans le caractère fruité typique des vins rouges de Bordeaux puisque celui-ci demeure intact après l'addition de pHMB (acide p-hydroxymercuribenzoïque) ou de sulfate de cuivre.

II. MATERIELS ET METHODES

1. REALISATION DES RECONSTITUTIONS AROMATIQUES

1.1 L'ORIGINE DE L'ODEUR

1.1.1 Fractions obtenues par CLHP

1.1.1.1 Préparation des fractions

500 mL de vin ont été successivement extraits par 80, 80, et 50 mL de dichlorométhane, pendant 15 minutes, à l'aide d'un agitateur magnétique, la vitesse de rotation du barreau aimanté étant de 700 tr/min. Les phases organiques et aqueuses ont été séparées par centrifugation à 4000 tr/min pendant 15 minutes. Les trois phases organiques ont été ensuite recueillies, assemblées et les quelques gouttes de solution aqueuse encore présentes ont été éliminées avec soin.

L'extrait organique ainsi obtenu a été enfin séché sur sulfate de sodium et concentré, d'abord au Rotavapor® (température du bain maintenue constante à 20°C) jusqu'à un volume d'environ 3 mL, puis sous flux d'azote, jusqu'à un volume final de 1,25 mL.

L'extrait brut obtenu a été fractionné par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Pression) en phase inverse sur colonne C18. Le système CLHP est équipé d'une pompe L-6200 A (Merck-Hitachi, Germany), 250 µL d'extrait ont été injectés sur une colonne Nova-Pak C18 (Waters, 30 cm de longueur, 3,9 mm de diamètre interne, 4 µm de diamètre des pores). Les conditions chromatographiques ont été optimisées par Pineau. (2007) : l'élution se fait à un débit constant de 0,5 mL/min avec le programme suivant : 100% eau pendant 2 minutes puis l'éthanol bidistillé est ajouté de façon linéaire afin d'obtenir 100% d'éthanol bidistillé au bout de 50 minutes. Les fractions sont recueillies toutes les 2 minutes, on obtient ainsi 25 fractions de 1 mL en phase aqueuse ou hydroalcoolique.

1.1.1.2 Sélection des fractions

La sélection des fractions a été réalisée par olfaction directe de celles - ci. Elle a été effectuée par des dégustateurs entraînés (panel 1), qui notent fraction par fraction leurs perceptions à partir d'un vocabulaire libre.

1.1.2 Composés de référence

Dix-huit produits commerciaux de grande pureté (supérieure à 98%) ont été utilisés dans le cadre d'essais sensoriels. Le propanoate d'éthyle, le 2-méthylpropanoate d'éthyle, le butanoate d'éthyle, le 2-méthylbutanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle, l'octanoate d'éthyle, le 3-hydroxybutanoate d'éthyle, l'acétate de 2-méthylpropyle, l'acétate de butyle, l'acétate d'hexyle, le diacétyle, l'acétoïne, l'acide acétique et la γ -butyrolactone ont été fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). L'acétate de 3-méthylbutyle a été obtenu auprès de VWR Prolabo (Fontenay-sous-Bois, France). Le mélange racémique des énantiomères du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle a été acquis auprès de TCI Europe (Zwijndrecht, Belgium) alors que les formes R et S ont été spécifiquement synthétisées par Hangzhou Imaginechem Co., Ltd (Hangzhou, China).

Le dichlorométhane (Pestipur) fourni par Carlo Erba (SDS, Italy) et l'éthanol (analytical grade, 99,97%) fourni par Scharlau Chemie (S.A, Barcelona, Spain) ont été distillés avant utilisation pour l'élimination des impuretés olfactives. Le sulfate de sodium (99%) a été fourni par Scharlau Chemie S.A. La résine LiChrolut EN a été obtenue auprès de Merck (Darmstadt, Germany).

1.2 MISE EN ŒUVRE DES RECONSTITUTIONS AROMATIQUES DANS DIFFERENTES MATRICES

Les reconstitutions ont été réalisées à partir de fractions de l'arôme du vin et/ou de composés de référence.

Les fractions aromatiques utilisées provenaient de deux vins : un vin issu du cépage du Merlot de Pays d'Oc (1) (millésime 2010), un vin issu du cépage Cabernet Sauvignon de la région bordelaise (millésime 2010) (2), un vin de la région de Margaux (3) (millésime 2005) et un vin de la région de Margaux (4) (millésime 2000).

Les reconstitutions aromatiques élaborées à partir des fractions obtenues par CLHP ont été préparées en assemblant les fractions et en les mettant en solution de telle sorte que le volume final obtenu corresponde au volume du vin à l'origine de ces fractions.

Dans le cadre de ce travail trois matrices ont été utilisées, permettant de réaliser, de manière quantitative, les reconstitutions aromatiques : deux solutions hydroalcooliques (1) et (2) et un vin "désaromatisé".

La matrice hydroalcoolique (1) était constituée d'éthanol absolu bi-distillé et de l'eau distillée de façon à atteindre un TAV de 12% vol.

La matrice hydroalcoolique (2) était constituée d'éthanol absolu bi-distillé et de l'eau distillée de façon à atteindre un TAV de 12% vol et ajustée à un pH de 3,5 grâce à l'ajout d'acide tartrique.

La méthode de désaromatisation utilisée reprend celles décrites par Pineau *et al.* (2009) et Campo *et al.* (2005). Le vin désaromatisé a été préparé à partir du vin rouge (2). Dans un premier temps, le vin a été évaporé au tiers au rotavapor puis de l'eau distillée et de l'éthanol absolu bi-distillé ont été ajoutés de façon à atteindre un TAV de 12% vol et un volume identique au volume du vin initialement mis en œuvre. La solution ainsi obtenue a été supplémentée à hauteur de 5 g/L de résine LiChrolut EN (40-120 µm) puis agitée pendant 12 heures. A l'issue, elle a été filtrée et cette étape de traitement au Lichrolut suivie d'une filtration répétée. Ainsi, un vin désaromatisé présentant un arôme particulièrement neutre et totalement exempt des composés volatils objets de nos travaux a pu être obtenu.

2. ANALYSE SENSORIELLE

De nombreuses dégustations ont été organisées. Elles ont toutes exclusivement concerné la perception orthonasale.

2.1 CONDITIONS ET PARAMETRES GENERAUX

2.1.1 Panel

Le panel 1, constitué de 3 spécialistes des arômes des vins, 2 femmes et 1 homme dont la moyenne d'âge était de $30,5 \pm 7,2$ (moyenne \pm écart type), a été utilisé pour réaliser les

analyses descriptives des vins, des fractions, de reconstitutions aromatiques et pour la réalisation des divers essais préliminaires.

- Le panel 2 était constitué de 17 personnes, 8 femmes et 9 hommes, âgés de $31,2 \pm 6,2$ ans (moyenne \pm écart-type).
- Le panel 3 était composé de 19 personnes, 11 femmes et 8 hommes, âgés de $30,7 \pm 5,1$ (moyenne \pm écart type).
- Le panel 4 était constitué de 15 personnes, 8 femmes et 7 hommes, âgés de $30,5 \pm 7,2$ ans (moyenne \pm écart-type).
- Le panel 5 était constitué de 18 personnes, 12 femmes et 6 hommes, âgés de $31,4 \pm 8,5$ ans (moyenne \pm écart-type).
- Le panel 6 était constitué de 18 personnes, 9 femmes et 9 hommes, âgés de $29,7 \pm 5,5$ ans (moyenne \pm écart-type)
- Le panel 7 était constitué de 22 personnes, 13 femmes et 9 hommes, âgés de $28,6 \pm 5,3$ ans (moyenne \pm écart-type).

Tous les panélistes, membres des différents laboratoires de recherche de l'ISVV, ont été choisis pour leur expérience dans l'évaluation des arômes fruités des vins rouges. Ce sont des œnologues, chercheurs, ou étudiants en œnologie, recrutés selon leur motivation et leur disponibilité pour participer à l'étude. Ces panels pouvaient donc être considérés comme expérimentés.

2.1.2 Environnement

Les séances d'analyse sensorielle ont été effectuées dans la salle de dégustation des laboratoires de recherche de l'ISVV. Les installations y sont conçues pour limiter les perturbations (bonne isolation phonique, température constante et régulée, etc.) selon la norme NF EN ISO 8589 : 2010 relative à ce type d'équipement. Les postes, bien individualisés, garantissaient une dégustation isolée et indépendante, sans concertation. Ils ne disposaient d'aucun matériel d'assistance informatique, seules des fiches de dégustations leur étaient systématiquement fournies.

2.1.3 Verres

Toutes les dégustations ont été faites dans des verres opaques (noirs), correspondants à la norme ISO 3591 : 1977.

2.2 LES EPREUVES SENSORIELLES ET L'INTERPRETATION STATISTIQUE DE LEURS RESULTATS

2.2.1 Epreuves discriminatives

2.2.1.1 Tests triangulaires

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

Des tests triangulaires ont été réalisés pour diverses reconstitutions aromatiques soit à partir des fractions obtenues par CLHP soit à partir des fractions obtenues par CLHP (expérimentation 1) mélanges éventuellement avec des composés de référence (expérimentations 2 et 3) soit même à partir des seuls composés de référence (expérimentation 4).

Le **Tableau 2** présente les divers tests triangulaires réalisés pour les expérimentations 1, 2 et 3. L'omission ainsi que l'ajout de certaines fractions ou de composés de référence à la reconstitution aromatique fruitée ont été évalués. De plus pour certains composés, l'odeur d'une solution le contenant, a été comparée à celle de la matrice hydroalcoolique.

Tableau 2 : Tests triangulaires effectués en solution hydroalcoolique en utilisant diverses reconstitutions aromatiques (RA)

		Echantillons comparés		Vin	Panel
Expé 1	Vin	RA (1 à 25)		1,2,3,4	2
	Vin	RA (17 à 22)		1,2,3,4	
	Vin	RA (17 à 22 + 3 à 5)		1,2,3,4	
	RA (1 à 25)	RA (17 à 22)		1,2,3,4	
	RA (1 à 25)	RA (18 à 22)		1,2,3,4	
	RA (17 à 22)	RA (18 à 22)		1,2,3,4	
	RA (17 à 22)	RA (17 à 22 + 3 à 5)		1,2,3,4	
	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 250 µg/L R- 2OH4MeC5C2		1	
RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 250 µg/L R- 2OH4MeC5C2		1		
RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 270 µg/L R- 2OH4MeC5C2		2		
RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 270 µg/L R- 2OH4MeC5C2		2		
RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 660 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)		3		
RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 660 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)		3		
RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 550 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)		4		
RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 550 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)		4		
Expé 3	RA (17 à 22)	RA (17 à 22) + 4 mg/L D + 3,2 mg/L A + 25 mg/L Ac + 8,5 mg/L GBL		1	5
	RA (17 à 22)	RA (17 à 22 + 3 à 5)		1	
	RA (17 à 22 + 3 à 5)	RA (17 à 22) + 4 mg/L D + 3,2 mg/L A + 25 mg/L Ac + 8,5 mg/L GBL		1	
	SH (1)	SH (1) + 4 mg/L D		-	
	SH (1)	SH (1) + 3,2 mg/L A		-	
	SH (1)	SH (1) + 25 mg/L Ac		-	
	SH (1)	SH (1) + 8,5 mg/L GBL		-	

Expé, expérimentation ; RA, reconstitution aromatique à partir des fractions obtenues par CLHP ; SH (1), solution hydroalcoolique (1) ; D, diacétyl ; A, acétoïne ; Ac, acide acétique ; GBL, -butyrolactone ; D, A, AC, et GBL ajoutés à des concentrations trouvées dans les fractions 3 à 5 du vin (1) ; 2OH4MeC₅C₂, 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ajouté à des concentrations trouvées dans la fraction 17 du vin correspondant.

Les **Tableaux 3** et **4** présentent les tests triangulaires réalisés dans le cadre de l'expérimentation 4 où des reconstitutions aromatiques ont été établies seulement à partir des composés de référence.

Une première série de tests triangulaires (*tests 1 à 12*) a consisté à évaluer la perception de chaque composé, isolément, en solution hydroalcoolique par le panel 6. Pour chaque composé, l'odeur d'une solution le contenant, à la teneur mentionnée dans le **Tableau 3**, a été comparée à celle de la matrice hydroalcoolique.

Dans un second temps, des tests d'omission (**Tableau 4** ; *tests 13 à 29*), ont été mis en œuvre en utilisant le même panel. Pour cela, à l'aide de tests triangulaires, l'arôme de la solution constitué de l'ensemble des composés testés a été comparé à celui d'une solution ne contenant que certains de ces composés.

Tableau 3 : Composition des échantillons comparés à la matrice hydroalcoolique lors de tests triangulaires ($\mu\text{g/L}$)

	C_3C_2	C_4C_2	C_6C_2	C_8C_2	2Me C_3C_2	2Me C_4C_2	2OH $4\text{MeC}_5\text{C}_2$	3OH C_4C_2	C_2C_4	C_2C_6	C_2iC_4	C_2iC_5
SH (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Test 1</i>	150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Test 2</i>	-	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Test 3</i>	-	-	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Test 4</i>	-	-	-	200	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Test 5</i>	-	-	-	-	250	-	-	-	-	-	-	-
<i>Test 6</i>	-	-	-	-	-	50	-	-	-	-	-	-
<i>Test 7</i>	-	-	-	-	-	-	400	-	-	-	-	-
<i>Test 8</i>	-	-	-	-	-	-	-	300	-	-	-	-
<i>Test 9</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-
<i>Test 10</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
<i>Test 11</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-
<i>Test 12</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250

SH (2), solution hydroalcoolique (2) ; C_3C_2 , propanoate d'éthyle ; C_4C_2 , butanoate d'éthyle ; C_6C_2 , hexanoate d'éthyle ; C_8C_2 , octanoate d'éthyle ; $2\text{MeC}_3\text{C}_2$, 2-méthylpropanoate d'éthyle ; $2\text{MeC}_4\text{C}_2$, 2-méthylbutanoate d'éthyle ; $2\text{OH}4\text{MeC}_5\text{C}_2$, 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ; $3\text{OHC}_4\text{C}_2$, 3-hydroxybutanoate d'éthyle ; C_2C_4 , acétate de butyle ; C_2C_6 , acétate d'hexyle ; C_2iC_4 , acétate de 2-méthylpropyle ; C_2iC_5 , acétate de 3-méthylbutyle.

Tableau 4 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests d'omissions réalisés

	C ₃ C ₂	C ₄ C ₂	C ₆ C ₂	C ₈ C ₂	2Me C ₃ C ₂	2Me C ₄ C ₂	2OH 4MeC ₅ C ₂	3OH C ₄ C ₂	C ₂ C ₄	C ₂ C ₆	C ₂ iC ₄	C ₂ iC ₅
RC (µg/L)	150	200	200	200	250	50	400	300	10	2	50	250
<i>Test 13</i>	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Test 14</i>	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X
<i>Test 15</i>	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X
<i>Test 16</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X
<i>Test 17</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-
<i>Test 18</i>	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Test 19</i>	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Test 20</i>	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Test 21</i>	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Test 22</i>	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X
<i>Test 23</i>	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X
<i>Test 24</i>	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X
<i>Test 25</i>	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X
<i>Test 26</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X
<i>Test 27</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X
<i>Test 28</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X
<i>Test 29</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-

RC, reconstitution complète à partir de composés de référence ; C₃C₂, propanoate d'éthyle ; C₄C₂, butanoate d'éthyle ; C₆C₂, hexanoate d'éthyle ; C₈C₂, octanoate d'éthyle ; 2MeC₃C₂, 2-méthylpropanoate d'éthyle ; 2MeC₄C₂, 2-méthylbutanoate d'éthyle ; 2OH4MeC₅C₂, 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ; 3OHC₄C₂, 3-hydroxybutanoate d'éthyle ; C₂C₄, acétate de butyle ; C₂C₆, acétate d'hexyle ; C₂iC₄, acétate de 2-méthylpropyle ; C₂iC₅, acétate de 3-méthylbutyle.

L'interprétation statistique des résultats de ces tests triangulaires repose sur un test d'hypothèse (Martin et de Revel, 1999). L'hypothèse choisie *a priori* postule l'identité entre les deux produits (hypothèse nulle notée H₀ : A = B, probabilité de réponses justes au hasard p₀ = 1/3). L'utilisation de la loi Binomiale (à laquelle répond la distribution des réponses observées pour ce type de test) permet de déterminer la probabilité d'obtenir le résultat de l'expérience (nombre k de réponses justes sur nombre n de réponses totales) sous cette hypothèse nulle. Plus cette probabilité est faible (proche de 0), moins on a de chance de vérifier l'hypothèse d'identité des produits. Les valeurs limites de probabilité généralement adoptées sont 5%, 1% et 0,1%. Lorsque la probabilité calculée est inférieure à ces valeurs, on rejette l'hypothèse en concluant à une différence significative entre les produits au risque de

5, 1 ou 0,1 %. Afin de faciliter l'analyse des réponses des tables sont disponibles dans la littérature, comme celle présentée dans l'annexe 6.

2.2.1.2 Détermination de seuils de perception

Les seuils de perception ont été déterminés grâce à une série de tests de difficulté décroissante et impliquant un choix forcé à chaque niveau. Il s'agit de la méthode ascendante et de la procédure d'essais 3-AFC (3 alternatives à choix forcé, NF ISO 13301 : 2002). A chaque niveau, trois solutions de 50 mL ont été présentées aux participants : l'une seulement contenait le produit à détecter, appelée échantillon "positif", les deux autres étaient des témoins ne contenant que la matrice. 10 niveaux de concentrations croissantes (d'un facteur de dilution 2) ont été présentés successivement. Pour la détermination du seuil d'un composé dans des matrices différentes, l'ordre de présentation des verres à chaque niveau de stimulation était le même afin de s'affranchir de l'influence de la présentation. Trois séries de 3-AFC au maximum ont été réalisées par séance.

Des seuils de perception ont été déterminés pour divers composés dans différentes matrices. Les **Tableaux 5** et **6** présentent les différents tests réalisés, les différentes matrices utilisées ainsi que le panel qui participe par séance. La fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe 2.

Des seuils de perception "particuliers" ont été également établis. Le seuil de la reconstitution aromatique a été ainsi mesuré dans des matrices différentes : la solution hydroalcoolique seule, la solution hydroalcoolique contenant le composé d'intérêt ainsi que la solution hydroalcoolique comportant ce composé en concentration fixe dans le verre positif seulement (**Tableau 6**).

Tableau 5 : Composition des échantillons présentés pour la détermination de seuils de perception

	Composé testé	Concentration testée (en µg/L)	Matrice	Panel
Expé 2	R- 2OH4MeC ₅ C ₂	25 / 50 / 100 / 200 / 400 / 800 / 1600 / 3200 / 6400 / 12800	SH (1) / VDR	4
	S- 2OH4MeC ₅ C ₂	2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128 / 256 / 512 / 1024	SH (1) / VDR	4
	R- et S- 2OH4MeC ₅ C ₂ (95/5, m/m)	26 / 53 / 105 / 210 / 421 / 842 / 1684 / 3367 / 6735 / 13469	SH (1) / VDR	4
	R- 2OH4MeC ₅ C ₂	25 / 50 / 100 / 200 / 400 / 800 / 1600 / 3200 / 6400 / 12800	SH (1) / RA (18 à 22)	3
	S- 2OH4MeC ₅ C ₂	2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128 / 256 / 512 / 1024	SH (1) / RA (18 à 22)	3
	R- et S- 2OH4MeC ₅ C ₂ (95/5, m/m)	26 / 53 / 105 / 210 / 421 / 842 / 1684 / 3367 / 6735 / 13469	SH (1) / RA (18 à 22)	3
Expé 4	C ₃ C ₂	25 / 50 / 100 / 200 / 400 / 800 / 1600 / 3200 / 6400 / 12800	SH (2)	7
	3OHC ₄ C ₂	50 / 100 / 200 / 400 / 800 / 1600 / 3200 / 6400 / 12800 / 25600	SH (2)	7
	C ₂ C ₄	4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128 / 256 / 512 / 1024 / 2048	SH (2)	7
	C ₂ iC ₄	10 / 20 / 40 / 80 / 160 / 320 / 640 / 1280 / 2560 / 5120	SH (2)	7

Expé, expérimentation ; SH (1), solution hydroalcoolique (1) ; SH (2), solution hydroalcoolique (2) ; VDR, vin rouge désaromatisé ; RA, reconstitution aromatique à partir de fractions obtenues par CLHP ; 2OH4MeC₅C₂, 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ; C₃C₂, propanoate d'éthyle ; 3OHC₄C₂, 3-hydroxybutanoate d'éthyle ; C₂C₄, acétate de butyle ; C₂iC₄, acétate de 2-méthylpropyle.

Tableau 6 : Composition des échantillons présentés pour la détermination de seuils de perception "particuliers"

	RA	Volume du vin/RC diluée dans 50 mL de matrice (en mL)	Matrice	Panel
Expé 2	RA (18 à 22)	0,3 / 0,6 / 1,3 / 2,5 / 5 / 10 / 20 / 40 / 80 / 160	SH (1) SH (1) + 400 µg/L R- 2OH4MeC ₅ C ₂ SH (1) + 20 µg/L S- 2OH4MeC ₅ C ₂ SH (1) + 420 µg/L R- et S- 2OH4MeC ₅ C ₂ (95/5, m/m)	3
	RC à l'exception du C ₃ C ₂	0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,8 / 1,6 / 3,1 / 6,3 / 12,5 / 25 / 50	SH (2) SH (2) + 150µg/L C ₃ C ₂ SH (2) + 150µg/L C ₃ C ₂ dans l'échantillon "positif"	7
Expé 4	RC à l'exception du 3OHC ₄ C ₂	0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,8 / 1,6 / 3,1 / 6,3 / 12,5 / 25 / 50	SH (2) SH (2) + 300µg/L 3OHC ₄ C ₂ SH (2) + 300µg/L 3OHC ₄ C ₂ dans l'échantillon "positif"	7
	RC à l'exception du C ₂ C ₄	0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,8 / 1,6 / 3,1 / 6,3 / 12,5 / 25 / 50	SH (2) SH (2) + 10µg/L C ₂ C ₄ SH (2) + 10µg/L C ₂ C ₄ dans l'échantillon "positif"	7
	RC à l'exception du C ₂ iC ₄	0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,8 / 1,6 / 3,1 / 6,3 / 12,5 / 25 / 50	SH (2) SH (2) + 50µg/L C ₂ iC ₄ SH (2) + 50µg/L C ₂ iC ₄ dans l'échantillon "positif"	7

Expé, expérimentation ; SH (1), solution hydroalcoolique (1) ; SH (2), solution hydroalcoolique (2) ; VDR, vin rouge désaromatisé ; RA, reconstitution aromatique à partir des fractions obtenues par CLHP ; RC, reconstitution complète à partir de composés de référence ; 2OH4MeC₅C₂, 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ; C₃C₂, propanoate d'éthyle ; 3OHC₄C₂, 3-hydroxybutanoate d'éthyle ; C₂C₄, acétate de butyle ; C₂iC₄, acétate de 2-méthylpropyle.

Pour le calcul des seuils, nous utilisons la méthode de calcul issue de la norme NF ISO 13301 : 2002. Cette méthode permet de déterminer, la concentration à laquelle la probabilité de détection est de 0,5, c'est-à-dire le seuil statistique en tenant compte de la probabilité de donner une bonne réponse au hasard mais aussi des effets de fatigue ou d'inattention. Cette valeur statistique a été déterminée en utilisant une adaptation de la méthode ASTM-E1432 (Cometto-Muñiz et Abraham, 2008). Une courbe sigmoïde de la forme $y = 1 / (1 + e^{-x})$ est

établie grâce au logiciel Sigma Plot 8 (SYSTAT) (Tempère *et al.*, 2011). Elle indique la fréquence de réponses correctes en fonction de la concentration. Elle correspond précisément à la probabilité de détection corrigée en fonction du logarithme base 10 de la concentration. La proportion corrigée par l'effet hasard P ($1/3$ dans le cas d'un test 3-AFC) est calculée ainsi : $P = (3 \cdot p - 1) / 2$, où p représente la proportion de réponses correctes pour chaque concentration. La fonction de détection étant modélisée par une sigmoïde, son équation peut s'écrire $P = P_{\max} / (1 + e^{-(x-x_0)/D})$. $b = 1/D$ avec b la pente de la courbe, où $P_{\max} = 1$, $x_0 =$ constante. Quand $P = 0,5$ (50% de réponses correctes), alors $x = x_0$, x_0 correspondant au seuil de perception.

De plus, la mise en évidence des effets synergiques pour certains mélanges a été évaluée en utilisant un modèle d'additivité proposé par Feller (1968). Théoriquement la réponse pour le phénomène d'addition est égale à : $p(AB) = p(A) + p(B) - p(A)p(B)$, où $p(AB)$ représente la probabilité de détection du mélange, $p(A)$ représente la probabilité de détection du composé A, $p(B)$ représente la probabilité de détection du composé B. Si la probabilité de détection théorique ($p(AB)$) pour le mélange est supérieure à la probabilité de détection expérimentale, cela indique un effet de suppression. Une probabilité de détection inférieure indique un effet d'hyper-addition. Enfin, si la probabilité de détection est identique à la probabilité théorique, aucune interaction en mélange ne s'est produite : on observe un simple effet d'addition. Afin de mettre en évidence ces différents phénomènes, la courbe psychométrique de la probabilité de détection estimée par le modèle de Feller a été comparée à la courbe psychométrique de la probabilité de détection expérimentale.

2.2.2 Epreuves descriptives

2.2.2.1 Description olfactive

Des analyses descriptives des vins et des fractions ont été réalisées par le panel 1. Cette première phase consiste à rechercher les descripteurs qui reflètent les perceptions relatives aux vins étudiés et à leurs fractions à partir d'un vocabulaire libre.

Des analyses descriptives des énantiomères du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ($2OH4MeC_5C_2$) ont été effectuées par le panel 4 en solution hydroalcoolique (1), en utilisant

les concentrations suivantes : R- 2OH4MeC₅C₂, 800 µg/L ; et S- 2OH4MeC₅C₂, 150 µg/L. Les participants ont été invités à choisir un maximum de trois descripteurs parmi les suivants : rose, groseille, banane, myrtille, caramel, violette, rose fanée, bourgeon de cassis, poivron vert, vanille, fraise, cassis, olive noire, réglisse-anis, champignon, cerise, clou de girofle, pruneau, beurre, confiture de fraise, confiture de mûre, tabac, mûre, pomme, framboise, bois de chêne "frais". Les 10 derniers descripteurs sur la liste ont également été présentés comme des références.

2.2.2.2 Etablissement de profils sensoriels

Des profils sensoriels ont été établis pour diverses reconstitutions aromatiques soit à partir des fractions obtenues par CLHP (expérimentation 1) soit à partir des fractions obtenues par CLHP mélangées éventuellement avec des composés de référence (expérimentations 2 et 3) soit même à partir des seuls composés de référence (expérimentation 4).

Concernant l'expérimentation 1 et 2, pour l'établissement de profils sensoriels, chaque descripteur a été évalué et positionné en fonction de son intensité sur une échelle de notation structurée de 0 à 7 (où 0 indique qu'aucune odeur n'est perçue et 7 indique que l'intensité est très élevée) (Martin et de Revel, 1999). Les quatre descripteurs sélectionnés étaient "fruits rouges", "fruits noirs", "fruits frais", et "fruits confiturés", il s'agit des plus spécifiques des vins rouges de Bordeaux (Pineau *et al.*, 2010).

Du fait de la complexité de l'épreuve, avant chaque séance, un poste a été mis à disposition et diverses références aromatiques ont été présentées. Ainsi, la fraise, la cerise, et la framboise ont été présentées comme références pour les fruits rouges frais et leurs confitures comme références pour les fruits rouges confiturés alors que la myrtille, la mûre, et l'extrait de cassis ont été présentés comme références pour les fruits noirs frais et leurs confitures comme références pour les fruits noirs confiturés.

Les reconstitutions aromatiques préparées à partir des différentes fractions, obtenues par CLHP de l'extrait organique des différents vins et réalisées en solution hydroalcoolique (1), sont présentées dans le **Tableau 7** (expérimentations 1 et 2). La fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe 3.

Tableau 7 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA)

		Echantillons comparés		Vin	Panel
Expé 1	Vin	RA (1 à 25)		1,2	
	Vin	RA (17 à 22)		1,2	
	RA (17 à 22)	RA (1 à 25)		1,2	2
	RA (17 à 22)	RA (17 à 22 + 3 à 5)		1,2	
	RA (17 à 22)	RA (18 à 22)		1,2	
	RA (17 à 22)	RA (18 à 22)		3,4	3
Expé 2	RA (17 à 22)	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 660 µg/L R- et S- 2OH4MeC ₅ C ₂ (95/5, m/m)	3	3
	RA (17 à 22)	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 550 µg/L R- et S- 2OH4MeC ₅ C ₂ (95/5, m/m)	4	

Expé, expérimentation ; RA, reconstitution aromatique à partir de fractions obtenues par CLHP ; 2OH4MeC₅C₂, 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ; D, diacétyl ; A, acétoïne ; Ac, acide acétique ; GBL, -butyrolactone.

Concernant l'expérimentation 3, des profils sensoriels ont été réalisés grâce au panel 5 lors de huit séances (chacune ayant lieu à des jours différents). Deux matrices (solution hydroalcoolique (1) et reconstitution aromatique à partir de fractions 17 à 22 ont été utilisées pour le test. Elles ont été supplémentées en diacétyl, acétoïne, acide acétique, et -butyrolactone (individuellement ou en mélange) à des concentrations retrouvées dans les fractions 3 à 5, du vin (1) (**Tableau 8**). Chaque échantillon de 50 mL a été présenté deux fois au cours de chaque session. Dans un premier temps, l'intensité du descripteur "arôme global" a été évaluée. Puis, celle des descripteurs "fruits frais" et "fruits confiturés". Ces intensités ont été évaluées sur une échelle non structurée de 0 à 100 mm, portant la mention "Peu intense" sur la gauche et "Très intense" sur la droite. La fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe 4.

Tableau 8 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA) dans deux matrices différentes (solution hydroalcoolique (1) et reconstitution aromatique à partir de fractions 17 à 22)

		Echantillon				
1	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + D	SH (1) + A	RA (17 à 22) + D	RA (17 à 22) + A
2	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + Ac	SH (1) + GBL	RA (17 à 22) + Ac	RA (17 à 22) + GBL
3	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + D + A	SH (1) + D + Ac	RA (17 à 22) + D + A	RA (17 à 22) + D + Ac
4	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + GBL + Ac	SH (1) + A + Ac	RA (17 à 22) + GBL + Ac	RA (17 à 22) + A + Ac
5	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + A + GBL	SH (1) + D + GBL	RA (17 à 22) + A + GBL	RA (17 à 22) + D + GBL
6	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + D + A + Ac	SH (1) + D + A + GBL	RA (17 à 22) + D + A + Ac	RA (17 à 22) + D + A + GBL
7	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + D + Ac + GBL	SH (1) + A + Ac + GBL	RA (17 à 22) + D + Ac + GBL	RA (17 à 22) + A + Ac + GBL
8	SH (1)	RA (17 à 22)	SH (1) + D + A + Ac + GBL	SH (1) + F 3 à 5	RA (17 à 22) + D + A + Ac + GBL	RA (17 à 22) + F 3 à 5

SH (1), solution hydroalcoolique (1) ; RA, reconstitution aromatique à partir des fractions obtenues par CLHP ; F, fractions D, diacétyle ; A, acétoïne ; Ac, acide acétique ; GBL, -butyrolactone ; D, A, AC, et GBL supplémentés à des concentrations trouvées dans les fractions 3 à 5 du vin (1)

Les données ont été analysées grâce au modèle des mélanges binaires, proposé par Patte et Laffort (1979) et basé sur deux paramètres [$\tau = f(\tau)$]. Tau (τ) correspond au rapport entre l'intensité de la reconstitution aromatique à partir des fractions obtenues par CLHP seule et la somme des intensités des reconstitutions aromatiques correspondant aux deux composantes du mélange isolément : $\tau = I_{RA(17 \text{ à } 22)} / (I_{RA(17 \text{ à } 22)} + I_C)$, avec $I_{RA(17 \text{ à } 22)}$ et I_C respectivement les intensités perceptive de la reconstitution aromatique à partir des fractions obtenues par CLHP et d'un composé étudié (diacétyle, acétoïne, l'acide acétique, et -butyrolactone, individuellement ou en mélange) avant le mélange.

Sigma (σ), rapport entre l'intensité dans le mélange et la somme des intensités dans les deux composantes du mélange, reflète le niveau d'interaction.

Tau et sigma ont été calculés pour les descripteurs "arôme global", "fruits frais", et "fruits confiturés". Les valeurs expérimentales moyennes ont été présentées à l'aide de la représentation synthétique $\tau = f(\sigma)$.

Le graphique est divisé en plusieurs parties, reflétant le niveau d'interaction (**Figure 7**) (Frijters, 1987). Cain et Drexler (1974) ont étudié des interactions se concentrant sur l'intensité perceptive globale du mélange par rapport aux intensités de chaque composant pris séparément. Ils définissent plus précisément les phénomènes observés sur l'intensité de composés odorants, et les différencient selon trois cas de figures. Ils ont indiqué que l'intensité du mélange pourrait être : (a) aussi grande que la somme des intensités des composants pris séparément, caractérisant l'addition complète ($I_{\text{mélange}} = (I_{\text{AR (17 à 22)}} + I_{\text{C}}), =1$) ; (b) plus grande que la somme des intensités des composants pris séparément, l'hyper-addition ($I_{\text{mélange}} > (I_{\text{AR (17 à 22)}} + I_{\text{C}}), >1$) ; ou (c) moins grande que la somme des intensités des composants pris séparément, l'hypo-addition ($I_{\text{mélange}} < (I_{\text{AR (17 à 22)}} + I_{\text{C}}), <1$). En outre, Frijters (1987) distingue trois cas d'hypo-addition : les termes addition partielle, compromis et compensation (ou soustraction) sont utilisés si l'intensité de l'odeur du mélange est plus grande que celles de chacun de ces composés, intermédiaire entre les intensités de l'odeur de chacun de ces composés ou plus petite que celles de chacun de ces composés pris séparément (**I.2.1.2**).

Afin d'évaluer statistiquement les modifications sensorielles des mélanges, les intervalles de confiance à 95% des valeurs moyennes de τ et de σ ont été calculés.

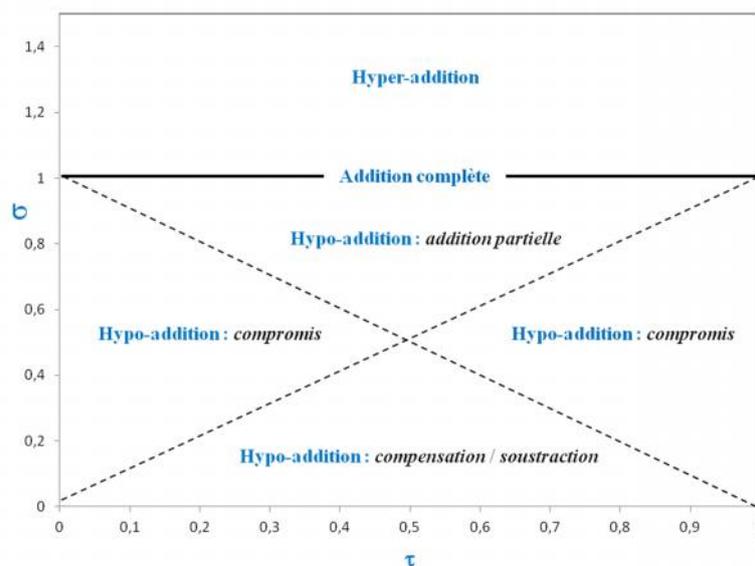


Figure 7 : Représentation graphique [$\sigma = f(\tau)$] introduite par Patte et Laffort (1979) illustrant les résultats sur l'intensité d'un mélange binaire tels que définis par Cain et Drexler (1974).

Concernant l'expérimentation 4, des profils sensoriels ont été réalisés grâce au panel 6. Chaque échantillon de 50 mL a été présenté deux fois au cours de chaque session. Les intensités des descripteurs "arôme global", "fruits rouges", "fruits noirs", "fruits frais", et "fruits confiturés" ont été évaluées sur une échelle non structurée de 0 à 100 mm, portant la mention "Peu intense" sur la gauche et "Très intense" sur la droite (Martin et de Revel, 1999). Du fait de la complexité de l'épreuve, avant chaque séance diverses références aromatiques ont été présentées au panel illustrant les descripteurs fruits noirs, fruits rouges et fruits confiturés : sirop de cassis, sirop de framboise, confiture de fraises et de mûres.

Quatre séances ont été réalisées dans ces conditions : à chaque fois, deux échantillons ont été soumis au panel : la reconstitution aromatique complète (reconstitution complète à partir de tous les composés de référence) et une reconstitution aromatique analogue qui ne contenait cependant pas un des composés (**Tableau 9**).

Les effets qualitatifs des omissions respectives du propanoate d'éthyle (C_3C_2), du 3-hydroxybutanoate d'éthyle ($3OHC_4C_2$), de l'acétate de butyle (C_2C_4) et de l'acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4) ont ainsi pu être évalués. Pour chaque séance deux répétitions ont été effectuées. La fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe 5.

Tableau 9 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA)

Echantillons comparés		
1	RC à l'exception du C_3C_2	RC
2	RC à l'exception du $3OHC_4C_2$	RC
3	RC à l'exception du C_2C_4	RC
4	RC à l'exception du C_2iC_4	RC

SH (2), solution hydroalcoolique (2) ; RC, reconstitution complète à partir de composés de référence ; C_3C_2 , propanoate d'éthyle ; $3OHC_4C_2$, 3-hydroxybutanoate d'éthyle ; C_2C_4 , acétate de butyle ; C_2iC_4 , acétate de 2-méthylpropyle.

Afin d'évaluer statistiquement les modifications sensorielles en mélange, des analyse de la variance à un facteur sur les données centrées-réduites ont été réalisés pour chaque descripteur (à l'exception des mélanges pour lesquelles les données ont été analysées avec le modèle proposé par Patte et Laffort). Les conditions d'application de l'ANOVA ont été vérifiées sous le logiciel R : homogénéité des variances (test de Levene) et normalité de résidus (test de Shapiro-Wilk). Si ces conditions n'étaient pas réunies, un test statistique bilatéral, non paramétrique, de Kruskal-Wallis a été appliqué (des comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner). Le risque est fixé dans les analyses à 5%.

3. ANALYSES INSTRUMENTALES

3.1 TECHNIQUES D'IDENTIFICATION

3.1.1 Préparation préalable de l'échantillon

50 mL d'échantillon ont été successivement extraits par 4, 2, et 2 mL de dichlorométhane, pendant 5 minutes, à l'aide d'un agitateur magnétique, la vitesse de rotation du barreau aimanté étant de 700 tr/min. Les phases, organique et aqueuse, ont été séparées par décantation. Les trois phases organiques ont été ensuite recueillies, assemblées dans un pilulier et les quelques gouttes de solution aqueuse encore présentes ont été éliminées avec soin. L'extrait organique ainsi obtenu a été enfin séché sur sulfate de sodium et concentré jusqu'à un volume d'environ 100 µL sous flux d'azote.

3.1.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

Le chromatographe utilisé est un HP 6890N (Hewlett-Packard, Wilmington, DE, USA) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP 5973i fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV), avec une détection en mode Scan (courant ionique total). 2 µL d'extrait organique ont été injectés en mode splitless - split (température de l'injecteur : 250°C, temps de fermeture : 45 s, débit de purge : 50 mL/min) sur une colonne capillaire BP20 (50 m, 0,22 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de film, SGE,

Ringwood, Australia) ou sur une colonne capillaire BP21 (50 m, 0,32 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de film) avec une température du four de 40°C pendant une minute suivi d'une programmation de 3°C/min jusqu'à l'isotherme final de 250°C, maintenu pendant 30 minutes. Le gaz vecteur était de l'hélium N55 (Air Liquide, France) avec une pression en tête de colonne de 8 psi. Les ions détectés sont compris dans une gamme de m/z allant de 40 à 300 et l'acquisition des résultats est effectuée en utilisant le logiciel MSD Chemstation pourvu de la Bibliothèque NIST 2008 MS (US National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Les composés ont ensuite été caractérisés par la comparaison de leurs spectres de masse et leurs ILR (Indices Linéaires de Rétention) avec ceux de composés de références analysés dans les mêmes conditions.

3.1.3 Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie

Le chromatographe utilisé est un HP-6890, équipé d'un système d'olfactométrie ODO-I (SGE, Ringbow, Australie) et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Les analyses olfactométriques sont pratiquées dans des conditions analogues à celles utilisées pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (3.1.2).

Des analyses olfactométriques ont été ainsi effectuées afin de s'assurer que les composés de référence ne contiennent pas d'impuretés odorantes et que le composé considéré est bien le responsable des propriétés odorantes observées.

3.2 DETERMINATIONS CHIMIQUES

3.2.1 Dosages par chromatographie en phase gazeuse (GC)

3.2.1.1 Mise au point du dosage des énantiomères du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate

50 mL d'échantillon ont été enrichis avec 50 µL d'octan-3-ol à 100 mg/L (dans l'éthanol 100 %) comme étalon interne. La méthode de préparation de l'extrait organique était celle décrite au paragraphe 3.1.1. Les énantiomères du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ont ensuite été dosés à l'aide d'un chromatographe HP 6890N couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP 5972 fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV),

avec une détection en mode SIM (selected ion monitoring) en sélectionnant les ions de rapport $m/z = 69$ comme ion quantificateur et $m/z = 87$ et $m/z = 104$ comme ions identificateurs. 2 μL d'extrait organique ont été injectés en mode splitless - split (température de l'injecteur : 180°C, temps de fermeture : 75 s, débit de purge : 30 mL/min) sur une colonne CHIRALDEX Gamma-TA (50 m, 0,25 mm de diamètre interne, 0,12 μm d'épaisseur de film, Astec, Whippany, NJ, USA) avec une température du four de 40°C pendant une minute suivi d'une programmation de 1°C/min jusqu'à 100°C, puis de 4°C/min jusqu'à l'isotherme final de 170°C maintenu pendant 5 minutes. Le gaz vecteur était l'hélium N55 (Air Liquide, France) avec une pression en tête de colonne de 20 psi.

Une courbe de calibration est réalisée pour le R- et S- 2-hydroxy-4-methylpentanoate d'éthyle. A cet effet, une solution modèle (eau distillé / éthanol bi-distillé à 12 %) est supplémentée avec 10 concentrations croissantes du composé à doser, allant respectivement de 0 à 2200 $\mu\text{g/L}$ et de 0 à 220 $\mu\text{g/L}$. Ces 10 échantillons sont ensuite préparés et analysés dans les conditions précédemment décrites. Les rapports entre les surfaces des pics de l'ion quantificateur du composé et de l'étalon interne sont calculés pour les différentes concentrations. L'équation de la droite de régression linéaire représentant ces rapports en fonction de la concentration de la solution ainsi que le coefficient de corrélation correspondant sont déterminés. Les coefficients de corrélation trouvés, respectivement $R^2 = 0,9955$ et $R^2 = 0,9938$ sont élevés.

La répétabilité de la méthode a été évaluée dans un vin rouge de la région Margaux (millésime 1990). Une extraction est répétée 7 fois. Le coefficient de variation était de 5,42 et de 4,98 % pour respectivement le R- et S- 2-hydroxy-4-methylpentanoate d'éthyle, résultats qui illustrent la bonne reproductibilité de la méthode de dosage.

Afin d'étudier la linearité du dosage, un vin rouge de Vin de Pays d'Oc (millésime 2010) reçoit 10 ajouts en R- et S- 2-hydroxy-4-methylpentanoate d'éthyle, allant respectivement de 0 à 2200 $\mu\text{g/L}$ et de 0 à 220 $\mu\text{g/L}$. Les coefficients de corrélation trouvés, respectivement $R^2 = 0,9959$ et $R^2 = 0,9983$ sont élevés.

Cette méthode de dosage a été notamment appliquée à l'analyse de 55 vins commerciaux de différents millésimes et origines (42 vins rouges et 13 vins blancs) détaillé en annexe 7.

3.2.1.2 Esters

La méthode développée par Antalick *et al.* (2010), permettant de doser des esters par microextraction sur phase solide, HS- SPME, a été utilisée. 20 µL de la solution d'étalons internes (butyrate d'éthyle-d5, hexanoate d'éthyle-d5, octanoate d'éthyle-d5 et cinnamate d'éthyle-d5 à 20 mg/L dans l'éthanol (100 %)) sont ajoutés à 25 mL de vin. Le mélange est homogénéisé, puis un prélèvement de 10 mL est placé dans un vial SPME préalablement rempli de 3,5g de NaCl. Le vial est serti avec une capsule métallique recouvert d'un septum en butyl/téflon, puis agité quelques secondes pour homogénéiser le tout.

Le chromatographe utilisé est un HP-6890 couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP-5972 fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV, température de la source : 280°C). La quantification des composés odorants est effectuée avec une détection en mode SIM (Selected Ion Monitoring) en sélectionnant des ions spécifiques de chaque molécule. Le dosage est réalisé en mesurant l'abondance de ces ions caractéristiques rapportée à celle de l'ion caractéristique de l'étalon interne. Le **Tableau 10** présente les ions utilisés pour la détection et la quantification des différents composés aromatiques nous intéressant. La fibre utilisée est en PDMS (épaisseur de film 100 µm) et l'adsorption a été effectuée à 40 °C pendant 30 minutes avec une vitesse d'agitation de 500 tr/min. La désorption se fait pendant 15 minutes dans l'injecteur du GC chauffé à 250 °C, utilisé en mode splitless (temps de fermeture : 45 s). La température du four est de 40°C pendant 5 minute suivie d'une programmation de 3°C/min jusqu'à l'isotherme final de 220°C, maintenu pendant 30 minutes. L'analyse est réalisée sur une colonne capillaire BP21 (50 m, 0,32 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de film). Le gaz vecteur était de l'hélium N55 (Air Liquide, France) avec une pression en tête de colonne de 8 psi.

Tableau 10 : Ions utilisés pour l'identification et la quantification des composés aromatiques dosés

Composé	Ions identificateurs	Ion quantificateur
Esters éthyliques des acides gras		
Propanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 57/75/45	<i>m/z</i> 102
2-Méthylpropanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 43/88/71	<i>m/z</i> 116
Butanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 71/60	<i>m/z</i> 88
2-Méthylbutanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 57/85/74	<i>m/z</i> 102
3-hydroxybutanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 71/88/117	<i>m/z</i> 87
Hexanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 60/99	<i>m/z</i> 88
2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 87/104	<i>m/z</i> 69
Octanoate d'éthyle	<i>m/z</i> 101/127	<i>m/z</i> 88
Acétates d'alcools Supérieurs		
Acétate de 2-méthylpropyle	<i>m/z</i> 43/73/116	<i>m/z</i> 56
Acétate de butyle	<i>m/z</i> 43/73/61	<i>m/z</i> 56
Acétate de 3-méthylbutyle	<i>m/z</i> 55/43	<i>m/z</i> 70
Acétate d'hexyle	<i>m/z</i> 43/61/84	<i>m/z</i> 56

3.2.1.3 Diacétyle

Les conditions chromatographiques ainsi que la méthode de préparation des échantillons sont celles décrites par de Revel *et al.* (2000).

50 mL d'échantillon ont été enrichis de 50 µL d'étalon interne (hexane-2,3-dione à 1,2 g/L en solution hydroalcoolique à 50%) et de 5 mL de solution aqueuse de 1,2-diaminobenzène à 6,5 g/L. Le pH a été ajusté à 8 (NaOH, 10N). La solution a été ensuite placée à 60°C pendant 3 heures, puis le pH a été réajusté à 2 (H₂SO₄, 2M). L'échantillon a été successivement extrait par 5 et 5 mL de dichlorométhane, pendant 5 minutes, à l'aide d'un agitateur magnétique. Les deux phases organiques ont été recueillies, assemblées dans un pilulier et les quelques gouttes de solution aqueuse encore présentes ont été éliminées avec soin. L'extrait organique ainsi obtenu a été enfin séché sur sulfate de sodium.

Le chromatographe utilisé est un HP-6890N couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP-5973i fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV), avec une

détection en mode SIM (Selected Ion Monitoring). 2 µL d'extrait organique ont été injectés en mode splitless - split (température de l'injecteur : 250°C, temps de fermeture : 30 s) sur une colonne HP-5MS (30 m, 0,25 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de film, SGE, Ringwood, Australia) avec une température du four de 60°C pendant une minute suivi d'une programmation de 2°C/min jusqu'à l'isotherme final de 220°C, maintenu pendant 20 minutes. Le gaz vecteur était de l'hélium N55 (Air Liquide, France) avec une pression en tête de colonne de 8 psi. Le diacétyl a été identifié par la détermination du spectre de masse et de l'ILR de la quinoxaline correspondante.

3.2.1.4 Acétoïne et -butyrolactone

Les conditions chromatographiques ainsi que la méthode de préparation des échantillons ont été décrites par de Revel et Bertrand (1994).

1 mL d'échantillon a été enrichi avec 50 µL d'octan-3-ol (400 mg/L dans une solution hydroalcoolique à 40% d'éthanol) comme étalon interne et 2 mL de méthanol.

L'acétoïne et la -butyrolactone ont été dosées par injection directe de l'échantillon dans un chromatographe HP 5890 couplé à un détecteur à ionisation de flamme (FID). 0,5 µL d'échantillon ont été injectés en mode splitless - split (température de l'injecteur : 250°C, temps de fermeture : 20 s) sur une colonne capillaire CP-WAX 57 CB (50 m, 0,25 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de film, Varian, Agilent Technologies, Palo Alto, CA) avec une température du four de 80°C pendant 5 minutes suivi d'une programmation de 3°C/min jusqu'à l'isotherme final de 200°C. Le gaz vecteur était de l'hydrogène 5,5 (Air Liquide, France) avec une pression en tête de colonne de 15 psi. L'acétoïne et la -butyrolactone ont été quantifiées en calculant le rapport entre la surface du pic de chaque composé étudié et celles de l'étalon interne.

3.2.2 Dosage de l'acide acétique par méthode enzymatique

La quantification de l'acide acétique a été réalisée à l'aide du kit enzymatique fourni par Boehringer Mannheim (R- Biopharm, Germany).

**III. MISE EN EVIDENCE D'INTERACTIONS PERCEPTIVES
REMARQUABLES A PARTIR DE FRACTIONS CLHP**

1. DESCRIPTION OLFACTIVE DES VINS ET DES FRACTIONS CORRESPONDANTES OBTENUES PAR CLHP

Les profils sensoriels de quatre vins rouges, préalablement sélectionnés par le panel 1 pour leur caractère aromatique fruité, ont été établis. L'application de la CLHP en phase inverse sur colonne C18 aux extraits au dichlorométhane de ces quatre vins donne lieu à 25 fractions en phase aqueuse ou hydroalcoolique. Les résultats de l'olfaction des différents vins et des fractions obtenues sont présentés dans le **Tableau 11**.

Quatre vins commerciaux ont été utilisés pour les analyses olfactives. Ils se composent, d'une part, de deux vins rouges très jeunes, monocépages et du même millésime, choisis pour leur caractère fruité typique de vins jeunes. D'autre part, deux vins de différents styles, de la même origine, issus d'un assemblage de différents cépages et passés par un élevage de quelques mois en fûts de chêne, ont été sélectionnés pour leur arôme fruité typique de vins de garde de quelques années.

Le vin (1), un Vin de pays d'Oc, issu du cépage Merlot et du millésime 2010, présente un nez parfaitement net, très intense avec beaucoup de fraîcheur et des arômes marqués par un caractère de fruits frais, comme la fraise accompagnée de cerise, griotte, groseille, mûre. Il révèle aussi des notes de fraise des bois avec une pointe d'arômes amyliques tels que le bonbon anglais et la banane.

Le vin (2), un vin d'AOC Bordeaux, issu du cépage Cabernet Sauvignon et du millésime 2010, présente une belle richesse au nez révélant des fruits rouges et noirs. Après agitation, il développe des notes fruitées et des notes légèrement épicées. Des arômes intenses, frais, de fruits rouges comme la groseille et la cerise se mêlent à ceux de fruits noirs tels le cassis et la mûre.

Le vin (3), un vin d'AOC Margaux, issu d'un assemblage de différents cépages (Merlot : 43%, Cabernet Sauvignon : 51% et Cabernet Franc : 6%) et du millésime 2005, a été élevé pendant 18 mois en barriques dont 60% de neuves. Il est dominé par des fruits rouges (cerise et framboise) et des fleurs. L'aération laisse émerger des notes de fruits noirs (cassis et mûre), d'épices (poivre) et de tabac blond.

Le vin (4), un vin d'AOC Margaux, issu d'un assemblage de différents cépages (Merlot : 42%, Cabernet Sauvignon : 55% et Cabernet Franc : 3%) et du millésime 2000, a été élevé pendant 18 mois en barriques dont 60% de neuves. Il présente des notes fruitées intenses. Les fruits rouges dominant (cerise) et les notes boisées sont très fondues. L'aération révèle le potentiel aromatique et la complexité du nez : cerise noire, cassis, mûre confiture de fruits rouges, arôme de cuir et notes florales.

Les analyses effectuées par le panel 1 ont confirmé que les caractéristiques olfactives des vins ont été conservées lors du fractionnement. Cette méthode offre ainsi la possibilité d'étudier sélectivement, fraction par fraction, les différentes notes aromatiques des vins. En effet, les descripteurs caractérisant chacun des vins, se retrouvent fidèlement parmi ceux attribués aux différentes fractions (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Description des fractions obtenues par CLHP et des deux vins rouges correspondants

	Vin (1)	Vin (2)
	<i>fruits rouges (fraise, cerise, groseille), fruits noirs (mûre), lacté, banane.</i>	<i>fruits rouges (cerise, groseille), fruits noirs (cassis), légèrement épicé.</i>
1	-	-
2	réduit très léger	réduit très léger
3	fraise, lacté	sucré brûlé, lacté
4	fraise, lacté	grillé, caramel - léger
5	caramel - léger, fraise, lacté	caramel - léger, fromage, butyrique
6	caramel, fraise , acides gras	caramel léger, acides gras
7	caramel, grillé, acides gras	acides gras, pieds, fromage
8	très lourd, solvant	très lourd, solvant, acides gras
9	lourd, alcools supérieurs	très lourd, alcools supérieurs
10	alcools supérieurs, solvant, irritant	très lourd, alcools supérieurs, solvant, irritant
11	épicé léger	épicé , végétal, herbe coupée - léger
12	fruit artificiel, fruits jaune, poire	végétal, fruits jaune, poire
13	floral, fruits jaune très léger	végétal, fleurs blanches
14	floral très léger	floral
15	floral, phénols volatils léger	floral, phénols volatils
16	floral, rose fanée	très lourd, floral, rose fanée
17	fruits noirs frais - léger	fruits noirs frais - léger
18	fruité (fruits rouges, fruits frais : cerise, groseille - agrumes)	fruité (fruits rouges) frais)
19	fruité (fruits rouges, agrumes)	fruité (fruits rouges)
20	fruité (fruit noir : mûre), banane - très intense	fruité très intense (fruit noir : mûre, fruit rouge : cerise, groseille)
21	fruité (fruit noir : cassis), banane - intense	fruité (cassis) frais)
22	fruité (cassis) frais)	fruité (cassis), épicé
23	éthanol, épicé	éthanol, épicé
24	éthanol	éthanol
25	éthanol	éthanol

FRACTIONS

Tableau 11 (suite) : Description des fractions obtenues par CLHP et des deux vins rouges correspondants

	Vin (3)	Vin (4)
	<i>fruits rouges (cerise, framboise), fruits noirs (cassis, mûre), florale, épicée, tabac.</i>	<i>fruits rouges (cerise), fruits noirs (cerise noire, cassis, mûre), boisé.</i>
1	-	-
2	réduit très léger	réduit très léger
3	grillé, sucre brûlé, lacté	beurré, grillé
4	grillé, caramel - léger	grillé, lacté
5	caramel, butyrique	caramel, lacté
6	caramel léger, épicé , tabac	caramel, grillé, boisé
7	acides gras- lourd, fromage	caramel, grillé, acides gras
8	très lourd, solvant, acides gras	très lourd, solvant, acides gras
9	très lourd, alcools supérieurs	très lourd, alcools supérieurs
10	très lourd, alcools supérieurs, solvant, irritant	très lourd, alcools supérieurs, solvant, irritant
11	épicé , végétal, herbe coupée - léger	épicé - léger, herbe coupée - léger
12	végétal, fruits jaunes, poire	fruits jaunes, poire
13	fleurs blanches-intense	floral, fruits jaunes très léger
14	floral	floral très léger
15	floral très lourd, phénols volatils	floral très lourd, phénols volatils
16	floral très lourd, rose fanée	floral très lourd, rose fanée
17	fruits noir frais - léger	fruits noirs frais - léger
18	fruité (fruits rouges : cerise, framboise)	fruité (fruits rouges : cerise)
19	fruité très intense (fruits rouges : cerise, groseille, fruit noir : mûre)	fruité (fruits rouges : groseille)
20	fruité très intense (fruit noir : mûre, fruit rouge : cerise)	fruité (fruit noir : mûre, fruits rouges : cerise), banane – très faible
21	fruité (fruit noir : cassis frais)	fruité (fruit noir : cassis), banane – très faible
22	fruité (fruit noir : cassis), très épicé	fruité (confiture de cassis)
23	éthanol, épicé	éthanol, épicé
24	éthanol	éthanol
25	éthanol	éthanol

FRACTIONS

2. ANALYSES PRELIMINAIRES

2.1 COMPOSITION EN ESTERS DES FRACTIONS FRUITEES

Après l'olfaction directe des fractions, nous nous sommes tout particulièrement penchés sur les fractions 17 à 22 présentant les odeurs fruitées caractéristiques nous intéressant, aussi sélectionnées pour leur caractère fruité intense par Pineau *et al.* (2009).

Nous avons vu que la méthode de fractionnement a permis, d'un point de vue sensoriel, une très bonne décomposition des notes aromatiques de l'extrait de vin. Ce fractionnement a également permis une très bonne séparation des esters en fonction de leur polarité ; les résultats d'analyses instrumentales montrent, comme prévu, que les esters éthyliques et acétates sont répartis dans les fractions 17 à 22 avec un indice linéaire de rétention plus grand pour les molécules les moins polaires (**Tableau 12**).

Mis à part le 3-hydroxybutanoate d'éthyle et le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle qui portent un groupement hydroxyle affectant leur polarité, on observe que les esters éthyliques sont recueillis dans la fraction 18 pour ceux de poids moléculaires les plus faibles et dans les fractions 21 et 22 pour ceux de poids moléculaires les plus élevés. Concernant les acétates d'alcools supérieurs on vérifie que la polarité de la chaîne alkyle conditionne également leur élution.

Le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle est quasi exclusivement élué dans la fraction 17 et est quasiment le seul (avec la présence de traces de propanoate d'éthyle et de 3-hydroxybutanoate) parmi les esters et acétates dosés se trouvant dans cette fraction qui, parmi les fractions fruitées, présente le moins intensément ce caractère.

Avant d'utiliser les fractions obtenues par CLHP pour élaborer des reconstitutions aromatiques représentatives, nous avons tenté d'évaluer si l'arôme du vin était effectivement conservé au cours de l'étape de fractionnement. Pour cela, nous avons quantifié quelques esters éthyliques et acétates dans des reconstitutions aromatiques élaborées, d'une part, à partir de l'extrait organique brut du vin et, d'autre part, à partir des fractions issues de ce même extrait. Les reconstitutions aromatiques sont préparées de telle sorte que le volume final obtenu corresponde au volume du vin à l'origine de ces fractions.

Ces esters éthyliques et acétates aux notes fruitées (Pineau *et al.*, 2009) ont été décrits comme contribuant aux arômes fruités des vins rouges (Bertrand, 1983 ; Etiévant, 1991 ; Moio et Etiévant, 1995 ; Campo *et al.*, 2006 ; Campo *et al.*, 2007 ; Falcao *et al.*, 2012).

Les données, consignées dans le **Tableau 12**, attestent, que les composés dosés sont intégralement élués, sans perte quantitative lors du fractionnement, dans les fractions 16 à 22.

Tableau 12 : Distribution de quelques esters lors du fractionnement. Teneurs apportées par les fractions 16 à 22 aux reconstitutions aromatiques ($\mu\text{g/L}$)

Composé	RA de l'extrait brut	Somme de RA (16 à 22)	RA 16	RA 17	RA 18	RA 19	RA 20	RA 21	RA 22
Esters éthyliques d'acides gras									
Propanoate d'éthyle	56	55	-	x	47	-	-	-	-
2 - Méthylpropanoate d'éthyle	61	55	-	-	50	5	-	-	-
Butanoate d'éthyle	77	76	-	-	67	9	-	-	-
2 - Méthylbutanoate d'éthyle	27	25	-	-	-	6	19	-	-
Hexanoate d'éthyle	151	148	-	-	-	-	x	71	77
Octanoate d'éthyle	123	114	-	-	-	-	-	9	104
3 - hydroxybutanoate d'éthyle	232	227	-	x	227	-	-	-	-
2 - hydroxy - 4 - méthylpentanoate d'éthyle	250	250	x	250	x	-	-	-	-
Acétates d'alcools Supérieurs									
Acétate de 2-méthylpropyle	21	19	-	x	19	x	-	-	-
Acétate de butyle	14	14	-	-	-	4	10	-	-
Acétate de 3-méthylbutyle	172	175	-	-	2	170	3	x	-
Acétate d'hexyle	1	1	-	-	-	-	-	-	1

"x" indique la présence à l'état de traces ; "-" indique l'absence ; RA, reconstitution aromatique.

2.2 SELECTION DES FRACTIONS

Avant de débiter la mise en œuvre des reconstitutions aromatiques nous avons effectué une sélection des fractions, issues des extraits de divers vins, grâce à des travaux préliminaires réalisés par le panel 1.

En premier lieu, toutes les fractions présentant systématiquement des notes fruitées (17 à 22) ont été tout naturellement sélectionnées. La reconstitution aromatique correspondante présente, bien sûr, des notes fruitées. Elle semble même assez proche de l'arôme du vin et en particulier des notes de fruits rouges et fruits noirs qu'il recèle.

A partir de ce mélange, servant de base de travail, divers essais visant à ajouter ou supprimer certaines fractions ont été effectués et ont permis d'observer que :

- ✓ L'ajout des fractions 3 à 5, ne présentant pas systématiquement de notes fruitées conduisait à une reconstitution aromatique où l'arôme fruité voyait son intensité modifiée.
- ✓ La suppression de la fraction 17, présentant, parmi les fractions fruitées, les notes les moins claires et les moins intenses, conduisait à une modification de l'arôme fruité.
- ✓ Divers tests mettant en jeu également les fractions 6 à 16, ne présentant pas de note fruitée seules ou en mélange, n'ont pas permis de modifier systématiquement pour tous les vins le caractère fruité des reconstitutions obtenues.

A partir de ces observations ont été conçus les tests soumis dans un second temps aux autres panels et qui sont détaillés au paragraphe **II.2.2**.

3. CARACTERISATION D'INTERACTIONS PERCEPTIVES

3.1 MISE EN EVIDENCE

Les premières données que nous avons pu recueillir de la réalisation de tests triangulaires et de l'établissement de profils sensoriels (expérimentation 1), concernent le vin (1) et les reconstitutions aromatiques réalisées à partir de ses fractions.

Le **Tableau 13** présente les résultats des différents tests triangulaires réalisés. Le nombre de réponses correctes données par les sujets nous a permis de conclure soit à une différence significative, soit à une identité entre les échantillons présentés.

Tableau 13 : Différences globales entre diverses reconstitutions aromatiques (RA)

Echantillons comparés			Vin (1)	Vin (2)	Vin (3)	Vin (4)
<i>Test 1</i>	Vin	RA (1 à 25)	*	*	*	*
<i>Test 2</i>	Vin	RA (17 à 22)	*	*	*	*
<i>Test 3</i>	Vin	RA (17 à 22 + 3 à 5)	*	*	*	*
<i>Test 4</i>	RA (1 à 25)	RA (17 à 22)	*	*	*	*
<i>Test 5</i>	RA (1 à 25)	RA (18 à 22)	*	*	*	*
<i>Test 6</i>	RA (17 à 22)	RA (18 à 22)	-	-	*	*
<i>Test 7</i>	RA (17 à 22)	RA (17 à 22 + 3 à 5)	*	*	*	*

*, significatif au seuil de 0,1% ; -, aucune différence significative.

Les essais effectués en utilisant le vin (1) ont montré que l'arôme du vin différait de celui de la reconstitution aromatique totale (RA (1 à 25)) (*test 1*). Cette observation peut s'expliquer par une différence de composition entre le vin et la reconstitution. Il semble, en effet, peu probable que la totalité des composés volatils du vin se retrouvent précisément aux mêmes teneurs dans la reconstitution aromatique, notamment du fait de la phase d'extraction préalable au fractionnement. De plus la composition non volatile de la matrice diffère considérablement entre une solution hydroalcoolique modèle et un vin rouge, engendrant ainsi des différences significatives dans la perception aromatique selon la matrice, phénomènes déjà abordés dans l'étude bibliographique, notamment pour les interactions entre des composés volatils et les composés non-volatils du vin comme les composés phénoliques (Dufour et Bayonove, 1999b ; Rocha *et al.*, 2001 ; Dufour et Sauvaitre, 2000 ; Aronson et Ebeler, 2004 ; Lorrain *et al.*, 2012) les polysaccharides (Dufour et Bayonove, 1999a), ou le dioxyde de soufre et les catéchols (Ferreira *et al.*, 2003). Les reconstitutions aromatiques moins exhaustives se distinguent également de l'arôme du vin (*tests 2 et 3*) ce qui se comprend aisément au vu de l'écart conséquent en composés aromatiques entre le vin et ces reconstitutions assez simples. De même les reconstitutions aromatiques moins exhaustives, AR (18 à 22) et AR (17 à 22), se distinguent de la RA (1 à 25) (*tests 4 et 5*).

Si on se penche plus particulièrement sur les reconstitutions aromatiques de fractions fruitées, on observe que, contrairement à ce qui avait été perçu pour le même vin par le panel 1, constitué de spécialistes, l'odeur de la RA (17 à 22) ne diffère pas de celle de la RA (18 à 22). Ainsi l'absence de fraction fruitée 17 de la RA (17 à 22) ne semble avoir aucune incidence sur l'expression fruitée globale (*test 6*).

Enfin, l'addition de fractions 3 à 5 à la RA (17 à 22) du vin (1) a été significativement perçue, indiquant que les substances volatiles de ces fractions peuvent jouer un rôle important (*test 7*).

La même batterie de tests triangulaires a été réalisée pour des reconstitutions aromatiques du vin (2). Les résultats obtenus pour les vins (1) et (2) issu des cépages différents, respectivement du Merlot et du Cabernet Sauvignon, mais du même millésime (2010), ont été analogues (**Tableau 13**).

Après nous être focalisés sur des vins très jeunes issus de monocépages, nous avons souhaité étendre cette approche à des vins commerciaux dont les arômes pourraient, à priori, être

moins fortement influencés par la composante fermentaire. Pour cela, deux vins de différents styles, les vins (3) et (4) ont subi les mêmes tests triangulaires que les vins (1) et (2).

Les résultats des tests triangulaires réalisés pour le vin (3), ont été en général analogues à ceux obtenus pour les vins (1) et (2). Néanmoins, pour le *test 6*, le nombre de réponses correctes données par les sujets nous a permis de conclure à une différence significative entre l'odeur de la RA (17 à 22) et celle de la RA (18 à 22). Le résultat obtenu pour ce même test réalisé à partir de reconstitutions aromatiques du vin (4) a été analogue. Aussi, il apparaît que, contrairement au cas des vins (1) et (2), pour les vins (3) et (4) des constituants de la fraction 17 jouent un rôle sur l'expression aromatique globale.

Par ailleurs, nous avons pu constater que l'ensemble des autres tests triangulaires réalisés à partir des vins (3) et (4) conduisaient aux mêmes résultats (**Tableau 13**).

Nos résultats obtenus à partir d'un nombre limité d'échantillons (du fait de l'ampleur de la tâche à mettre en œuvre) choisis avec soins ont montré que l'addition des fractions 3 à 5 à de la RA (17 à 22) conduisait toujours à une différence significative, alors que la suppression de la fraction 17 de cette même reconstitution aromatique conduisait dans certains cas seulement à une modification de l'arôme fruité ce qui incite à approfondir l'étude de la composition de ces diverses fractions.

3.2 DESCRIPTION

La **Figure 8** présente les intensités obtenues lors de l'établissement des profils sensoriels pour le vin (1) pour quelques descripteurs fruités. Après l'exploitation statistique des résultats des différences significatives ont été mises en évidence entre les intensités des descripteurs fruits noirs, fruits frais et fruits confiturés, pour le vin et quelques reconstitutions aromatiques (RA).

Les intensités des quatre descripteurs fruités étudiés s'avèrent identiques dans le vin et dans la RA (1 à 25). Dans la mesure où ces échantillons sont olfactivement et d'un point de vue global statistiquement différents, il semble que ce soit d'autres notes aromatiques que celles évaluées ici qui les différencient.

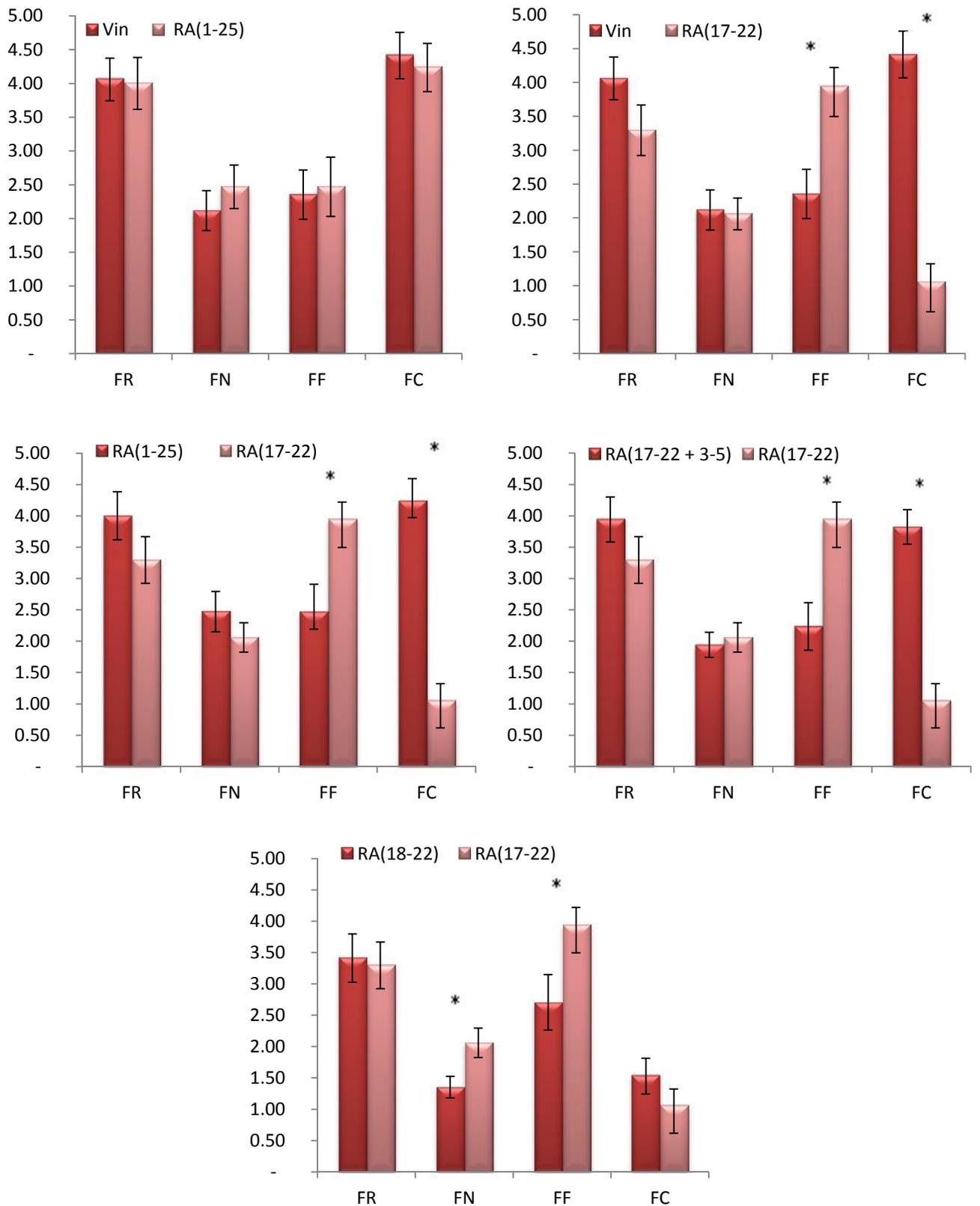


Figure 8 : Profils sensoriels du vin (1) et de quelques reconstitutions aromatiques (RA) correspondantes. * $p < 0.05$; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

Nous avons également pu constater qu'à l'aide des fractions présentant des notes fruitées (RA (17 à 22)), il était possible d'obtenir des reconstitutions aromatiques avec des notes de fruits rouges et noirs de même intensité que le vin correspondant ou encore que la RA (1 à 25), bien que les RA diffèrent sensiblement de l'arôme global du vin (**Tableau 13**, *tests 1, 2 et 3*).

Les intensités des notes de fruits frais sont inférieures pour la RA (1 à 25) et pour le vin en comparaison avec la RA (17 à 22). Concernant le descripteur fruits confiturés, il apparaît, à l'inverse que son intensité est plus faible pour la RA (17 à 22) que pour le vin ou la RA (1 à 25). Ces données suggèrent que des fractions ne présentant pas de note fruitée perceptible contribuent au caractère fruit confituré de l'ensemble.

Les résultats obtenus lors de la supplémentation de la RA (17 à 22) par les fractions 3 à 5, qui conduit aussi à une diminution des notes de fruits frais et à une augmentation de celles de fruits confiturés, confirment les résultats obtenus lors la réalisation des tests triangulaires, indiquant que des fractions sans caractère fruité particulièrement clair pouvaient influencer certaines composantes du caractère fruité global.

Des données bibliographiques indiquent que certaines substances volatiles ne présentant pas nécessairement des arômes fruités nets, peuvent également participer à la note fruitée des vins rouges. Le furanéol[®] et l'homofuranéol[®], par exemple, bien connus pour leur odeur de caramel, semblent renforcer la perception des arômes de fruit rouges (Kotseridis et Baumes, 2000 ; Aznar *et al.*, 2001 ; Culleré *et al.*, 2004).

Les intensités moyennes des notes de fruits frais et de fruits confiturés semblent analogues dans la RA (17 à 22) supplémentée avec les fractions 3 à 5 et dans la RA (1 à 25), soulignant l'importance des fractions 3 à 5, qui pourraient avoir le même impact que l'ensemble des fractions non fruitées sur l'expression des notes de fruits frais et de fruits confiturés. Ce changement de l'intensité des caractères de fruits frais et de fruits confiturés dû à ces fractions (3 à 5) suggère qu'il existe parmi leurs constituants des composants pouvant jouer un rôle de masquage de la composante fruits frais et d'amplification de l'arôme de fruits confiturés.

Par ailleurs, des différences significatives ont été mises en évidence entre les RA (18 à 22) et (17 à 22) : lorsque la fraction 17 est présente, les intensités moyennes des notes de fruits noirs et de fruits frais sont significativement plus élevées. Ces résultats indiquent que la fraction 17,

de faible caractère fruité, peut contribuer aux notes de fruits noirs et de fruits frais de l'ensemble.

Des profils sensoriels analogues à ceux présentés **Figure 8** ont été établis pour le vin (2) ainsi que diverses reconstitutions aromatiques issues de ce vin. Comme précédemment pour les tests triangulaires, les résultats obtenus pour les vins (1) et (2) vont complètement dans le même sens (**Figure 9**).

Dans les deux cas (vin 1 et 2), notre panel a trouvé une différence significative entre les RA (18 à 22) et (17 à 22) pour les notes de fruits noirs et fruits frais alors qu'il n'avait pas été capable de différencier ces reconstitutions lors de la réalisation de tests triangulaires. Le but de ce test triangulaire n'est ni d'identifier, ni de quantifier les différences entre échantillons, l'intérêt est seulement porté sur les différences globales entre échantillons sans précision liée à la nature ou l'intensité de celles-ci. Pour les vins (1) et (2) cette différence n'était pas statistiquement avérée mais la somme de réponse était très proche du seuil de 5% de significativité. Le profil sensoriel s'intéresse, lui, à la nature des différences entre échantillons, et le fait que les sujets ont évalué les échantillons en sachant qu'ils étaient différents, a pu contribuer à leur faire affirmer cette différence.

La **Figure 10** présente les profils sensoriels concernant les reconstitutions aromatiques fruitées réalisées à partir des fractions provenant du vin (3). Comme pour le vin (1) et (2), des différences significatives ont été mises en évidence entre les RA (18 à 22) et la RA (17 à 22). Lorsque la fraction 17 était présente, les intensités moyennes des notes de fruits noirs et de fruits frais étaient significativement plus importantes. Les profils sensoriels concernant les reconstitutions aromatiques fruitées réalisées à partir des fractions provenant du vin (4) donnent des résultats analogues (**Figure 11**).

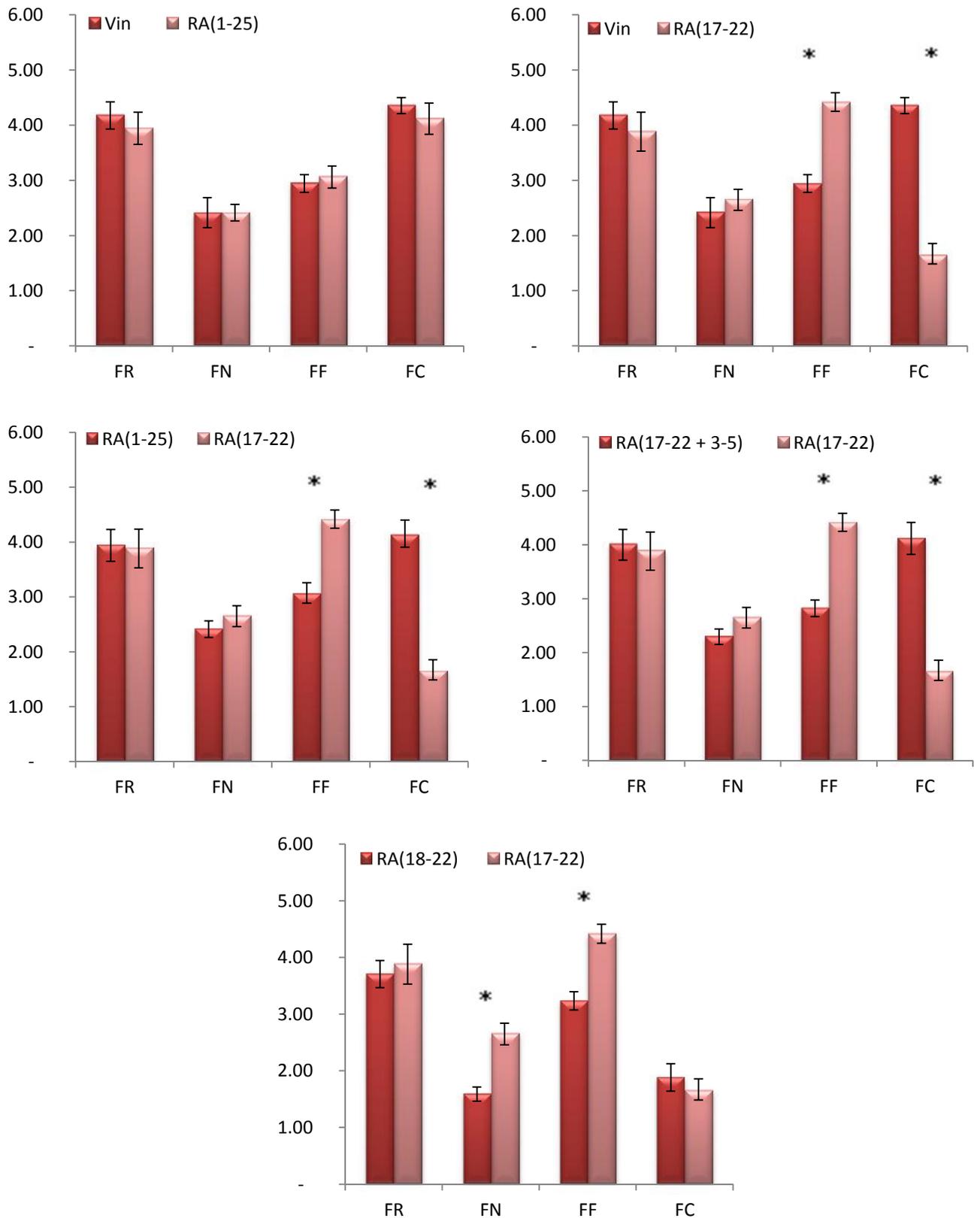


Figure 9 : Profils sensoriels du vin (2) et de quelques reconstitutions aromatiques (RA) correspondantes. * $p < 0.05$; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

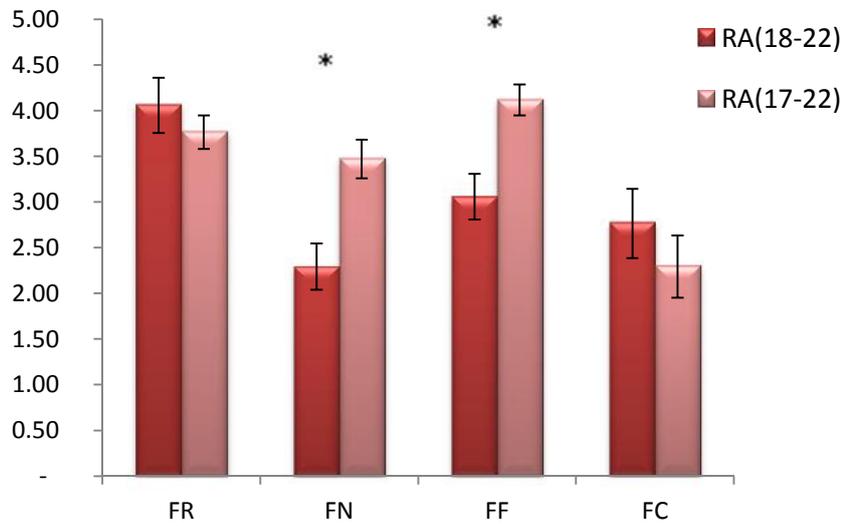


Figure 10 : Effet de la fraction 17 sur l'odeur de la RA (18 à 22) du vin (3). * $p < 0.05$; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

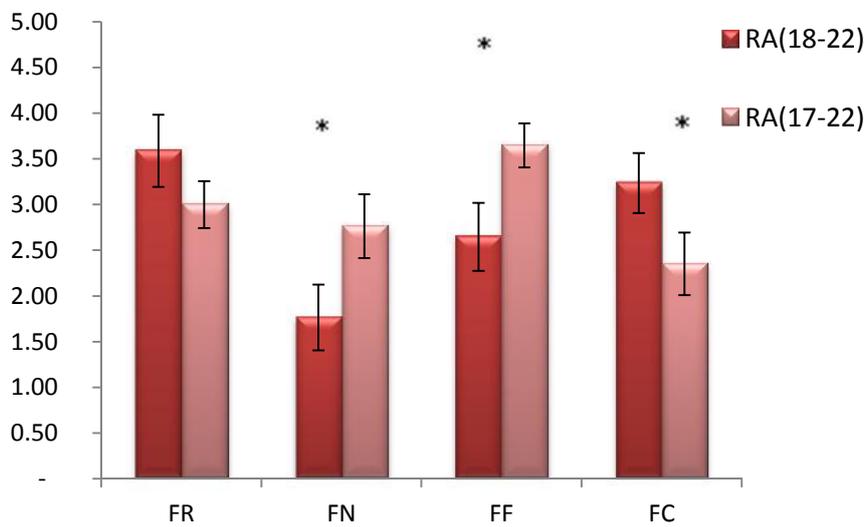


Figure 11 : Effet de la fraction 17 sur l'odeur de la RA (18 à 22) du vin (4). * $p < 0.05$; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

**IV. ETUDE D'UN EFFET EXHAUSTEUR SUR LE
CARACTERE FRUITE**

1. ORIGINE DE L'EFFET EXHAUSTEUR

Grâce à l'analyse sensorielle, nous avons pu mettre en évidence quelques interactions perceptives affectant les notes de fruits frais et de fruits noirs (chapitre III). La comparaison des RA (17 à 22) et RA (18 à 22) a, en particulier, montré que l'intensité de la note de fruits frais et de fruits noirs était la plus élevée dans le cas de la RA (17 à 22).

Ces résultats, obtenus pour quatre vins (1), (2), (3) et (4) indiquent que la fraction 17, de faible caractère fruité, peut contribuer aux notes de fruits noirs et fruits frais de l'ensemble, suggérant que ses constituants peuvent agir comme un exhausteur de ces notes. La caractérisation des composés présents dans la fraction 17 sera donc indispensable dans le but de trouver les molécules à l'origine de ces effets notables.

1.1 IDENTIFICATION DU 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE

L'analyse de la composition de la fraction 17 a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse.

La fraction 17, présentant de très légères notes de fruits frais, était d'un point de vue analytique relativement simple. L'approche olfactométrique nous a permis d'identifier une seule zone odorante au caractère fruité sur laquelle nous nous sommes concentrés. A l'aide de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse le spectre correspondant à cette zone odorante a pu être obtenu ; selon la bibliothèque NIST il correspond à hauteur de 89% à celui du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle. Ces résultats ont été confirmés en comparant l'ILR (Indice Linéaire de Rétention) et le spectre de masse du composé détecté dans le vin (1522 sur une colonne BP20) à ceux du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle de référence (1524 sur une colonne BP20). Les chromatogrammes ainsi que les spectres de masse obtenus sont présentés dans la **Figure 12**.

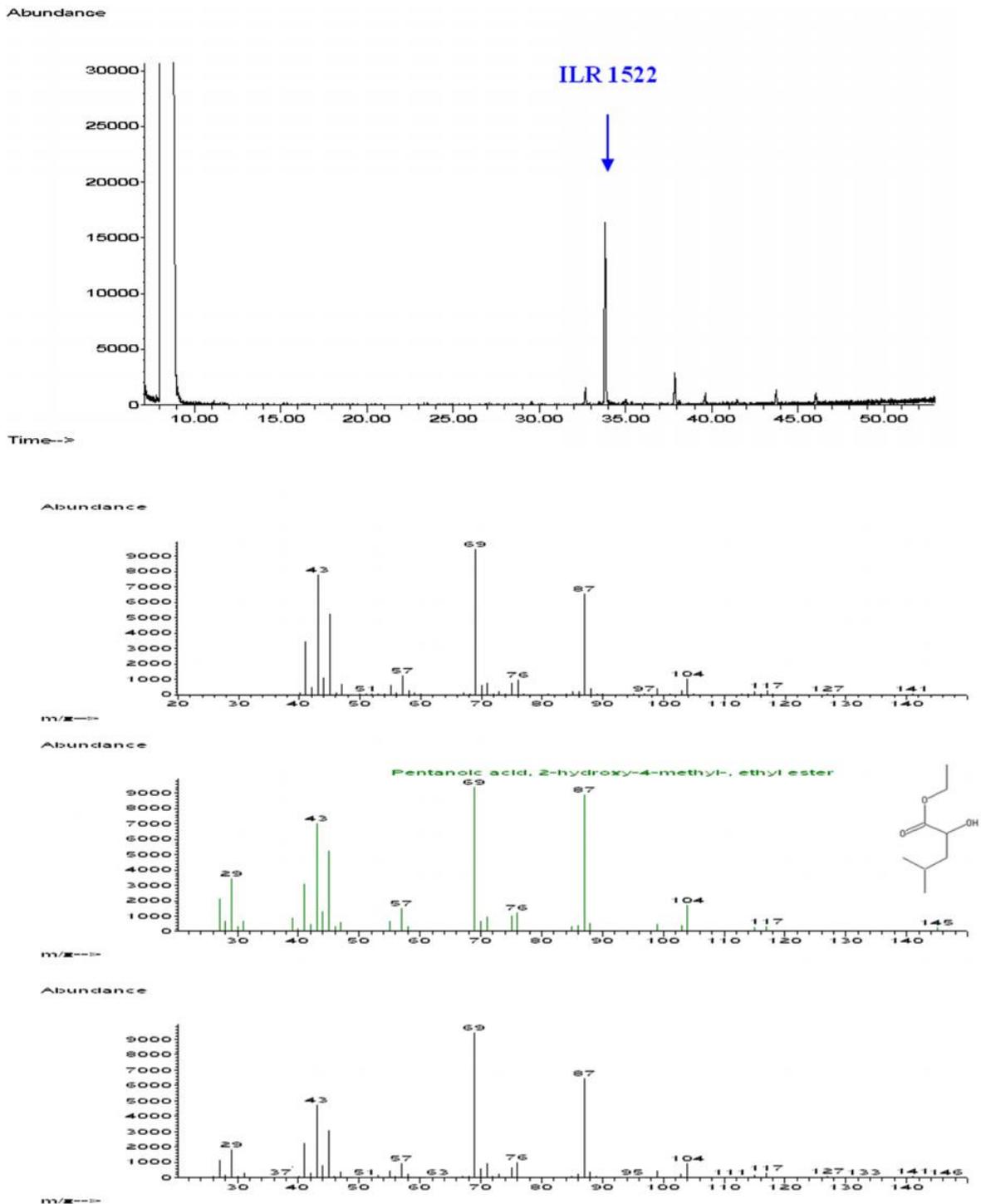


Figure 12 : (a) Chromatogramme, en mode scan, de l'extrait brut de la reconstitution aromatique de la fraction 17. (b) Spectre de masse du pic présentant un ILR 1522. (c) Spectre de masse du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle selon NIST 2008 (NIST register number = 65090, CAS number = 10348-47-7). (d) Spectre de masse du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle de référence.

Le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle, ou leucate d'éthyle, est décrit pour avoir un impact aromatique dans de nombreux aliments ainsi que dans le vin. Luccarelli *et al.* (1984) ont évoqué son arôme proche de celui de la myrtille et de l'huile de valériane. Ces mêmes auteurs ont indiqué que ce composé ajouté dans une matrice à des niveaux d'environ 1 à 100 ppm, était capable de conférer des arômes de myrtilles, de fruits tropicaux, de noix de cajou, de citron vert ou d'huile de valériane. Il a été également identifié dans les fruits frais, tels que la pomme de cajou (Bicalho *et al.*, 2000 ; Garruti *et al.*, 2003). Dans les distillats, il a été initialement trouvé dans des brandies par Schreier *et al.* (1979) et plus récemment, dans des Calvados fraîchement distillés et des Cognac par Ledauphin *et al.* (2004).

Concernant le vin rouge, très peu de données bibliographiques font référence à cet ester. Le leucate d'éthyle a été mis en évidence par Campo *et al.* (2006) dans de vieux Madère et certains Xérès. Plus récemment, il a aussi été identifié dans les vins rouges secs par Falcao *et al.* (2012) qui ont observé ses notes marquées de mûre.

L'examen de la formule de cet ester indique qu'il possède un atome de carbone asymétrique évoquant la présence possible de deux énantiomères (**Figure 13**).

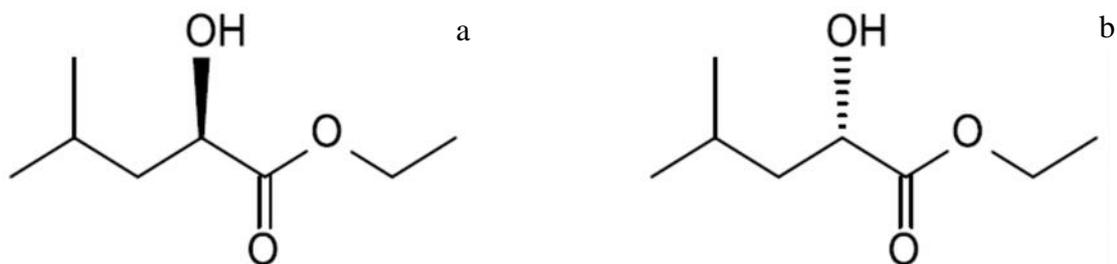


Figure 13 : (a) : R- 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle (R-leucate d'éthyle, CAS number =60856-83-9). (b) : S-2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle (S-leucate d'éthyle, CAS number =60856-85-1).

Grâce à la chromatographie en phase gazeuse sur colonne chirale (α -cyclodextrine), nous avons développé une méthode de séparation de ces deux isomères optiques. La **Figure 14** montre le résultat de son application au produit de référence qui s'est avéré être un mélange racémique. Les analyses séparées des isomères optiques ont permis de montrer que la forme R était éluee avant la forme S, les ILR des formes R et S étant, respectivement, de 1278 et 1284 dans ces conditions d'analyse.

L'approche olfactométrique nous a permis d'estimer le caractère aromatique du leucate d'éthyle. Les analyses olfactométriques ont été réalisées par le panel 1. L'odeur du leucate d'éthyle évoque globalement celle de la mûre, note aromatique également observée par Falcao *et al.* (2012). Les analyses olfactométriques réalisées à partir du mélange racémique ont montré que l'odeur la plus légère était celle de la forme R qui évoquait la mûre fraîche mais aussi artificielle alors que l'odeur de la forme S était plus intense et rappelait la mûre sauvage avec son côté légèrement végétal. L'olfaction séparée des isomères optiques confirme ces résultats, du point de vue qualitatif tout du moins.

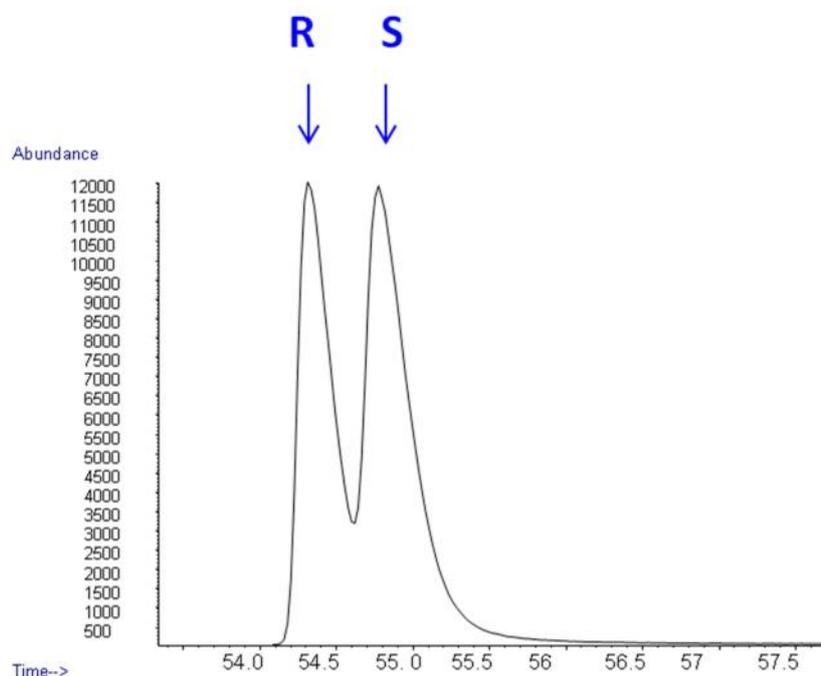


Figure 14 : Chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne chirale (α -cyclodextrine) du mélange racémique de leucate d'éthyle.

1.2 QUANTIFICATION DES ENANTIOMERES DU 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE

Pour les vins utilisés dans le cadre des reconstitutions aromatiques, les énantiomères du leucate d'éthyle ont été dosés dans les différentes fractions 17. Ces analyses ont montré des rapports énantiomériques ainsi que des concentrations différentes.

Dans le cas des vins (1) et (2), seul l'énantiomère R est présent à des concentrations, respectivement de 250 et de 270 µg/L. Dans les vins (3) et (4), où plus de 80% des sujets ont discerné l'addition de la fraction 17, la concentration du leucate d'éthyle était presque deux fois plus élevée, respectivement de 660 et de 550 µg/L. De plus, la forme énantiomérique S était également présente dans ces vins (3) et (4) avec un ratio R/S de l'ordre de 95/5 (m/m) pour les deux vins (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Teneurs et rapports énantiomériques du leucate d'éthyle dans les vins à l'origine des reconstitutions aromatiques

Vin	Concentration RS-leucate d'éthyle (µg/L)	Rapport énantiomérique R/S (m/m)
(1)	250	100/0
(2)	270	100/0
(3)	660	95/5
(4)	550	95/5

1.3 IMPORTANCE DU 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE DANS L'EFFET EXHAUSTEUR

Des tests triangulaires réalisés, par le panel 3, ont confirmé que l'addition de 250 et de 270 µg/L de R-leucate d'éthyle à la RA (18 à 22) réalisée respectivement à partir des fractions des vins (1) et (2) n'était pas perçue (**Tableau 15**, *tests 1* et *2*), tandis que l'addition de 660 et de 550 µg/L de R- et S-leucate d'éthyle (R/S=95/5, m/m) à la RA (18 à 22) réalisée respectivement à partir des fractions des vins (3) et (4), était significativement perçue

(**Tableau 15**, tests 3 et 4). Ces résultats démontrent, ici, que les deux formes énantiomériques jouent un rôle olfactif important.

De plus, à l'aide de tests triangulaires, la RA (18 à 22) additionnée de la fraction 17 a été comparée avec la RA (18 à 22) additionnée de leucate d'éthyle aux concentrations identiques à celles apportées par la fraction 17 du vin correspondant. Pour les quatre vins, les sujets ont discerné la différence entre les deux échantillons (**Tableau 15**, tests 5, 6, 7 et 8). Ceci démontre que l'addition du leucate d'éthyle, à la concentration identique à celle apportée par la fraction 17 dans la RA (18 à 22), ne conduit pas aux mêmes résultats sur l'arôme global que l'addition de fraction 17 dans les mêmes fractions fruitées. Ainsi, il n'a pas été possible de reproduire dans son intégralité l'arôme de la RA (17 à 22) à l'aide du leucate d'éthyle, qui même si elle est analytiquement et olfactivement peu complexe peut contenir un certain nombre de composés.

Tableau 15 : Impact de l'addition à la RA (17 à 22) de la fraction 17 ou du leucate d'éthyle à la concentration apportée par la fraction 17.

Echantillons comparés			Vin	Différence observée
Test 1	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 250 µg/L R- 2OH4MeC5C2	1	-
Test 2	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 270 µg/L R- 2OH4MeC5C2	2	-
Test 3	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 660 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)	3	*
Test 4	RA (18 à 22)	RA (18 à 22) + 550 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)	4	*
Test 5	RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 250 µg/L R- 2OH4MeC5C2	1	*
Test 6	RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 270 µg/L R- 2OH4MeC5C2	2	*
Test 7	RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 660 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)	3	*
Test 8	RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + 550 µg/L R- et S- 2OH4MeC5C2 (95/5, m/m)	4	*

*, significatif au seuil de 0,1% ; - , aucune différence significative.

Dans un second temps, afin d'évaluer le rôle du leucate d'éthyle dans l'effet d'amplification dû à la fraction 17, nous avons mené son impact sur l'intensité de l'arôme fruité des reconstitutions aromatiques. Pour cela des profils sensoriels concernant les caractères aromatiques de fruits rouges, fruits noirs, fruits frais et fruits confiturés ont été élaborés à l'aide d'une échelle d'intensité structurée de 0 à 7. Trois échantillons de reconstitutions aromatiques des fractions fruitées du vin (3) en solution hydroalcoolique modèle ont été présentés. Le premier se compose des fractions fruitées 18 à 22 et le second se compose des mêmes fractions fruitées complétées avec 660 µg/L d'un mélange de R- et S-leucate d'éthyle (95/5, m/m), quantité apportée par la fraction 17 du vin correspondant. Le troisième se compose de fractions fruitées 17 à 22.

Les intensités moyennes de chaque descripteur aromatique obtenues lors de l'établissement de ces profils sensoriels sont rapportées dans le **Tableau 16**. Une première lecture des résultats permet d'observer que l'intensité des descripteurs nous intéressant est sensiblement le même pour la RA (17 à 22) et la RA (18 à 22) additionnée du leucate d'éthyle. L'addition de la fraction 17 ou de 660 µg/L de R/S - leucate d'éthyle (95/5, m/m) (quantité apportée par la fraction 17 du vin correspondant) dans la RA (18 à 22) semble ne pas influencer l'intensité du caractère fruits rouges et fruits confiturés.

Tableau 16 : Importance de l'addition du leucate d'éthyle dans la RA (18 à 22) du vin (3) sur l'effet exhausteur dû à la fraction 17

Descripteurs	Echantillons *			Vin (3)
	RA (18 à 22)	RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + R/S 660µg/L leucate d'éthyle (95/5, m/m)	
FR	4,06 a	3,76 a	4,12 a	
FN	2,29 a	3,47 b	3,29 b	
FF	3,06 a	4,12 b	4,35 b	
FC	2,76 a	2,29 a	2,59 a	

*p<0,05 ; Les valeurs avec des lettres différentes au sein de chaque ligne sont significativement différentes ; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés.

Des différences significatives ont été mises en évidence pour les descripteurs fruits noirs et fruits frais entre la RA (18 à 22) et la RA (18 à 22) additionnée de la fraction 17, ou de 660 µg/L de R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m). Les intensités moyennes pour les descripteurs fruits noirs et fruits frais sont significativement plus élevées que dans les RA (18 à 22). Ceci révèle que le leucate d'éthyle peut expliquer l'influence de la fraction 17 dans l'expression de ces notes. Ajouté alors à une concentration identique à celle apportée par la fraction 17, le leucate d'éthyle conduit seul, aux modifications olfactives liées à la fraction 17, contribuant activement aux notes fruits noirs et fruits frais.

De même, l'addition de la fraction 17 ou de 550 µg/L R/S- leucate d'éthyle (95/5, m/m) (quantité apportée par la fraction 17 du vin correspondant) dans la RA (18 à 22) du vin (4) conduisait aux mêmes résultats pour les descripteurs fruits noirs et fruits frais, démontrant l'importance du leucate d'éthyle dans l'effet exhausteur aux notes fruits noirs et fruits frais. Les résultats obtenus pour les vins (3) et (4), à l'exception de ceux concernant le caractère fruits confiturés, vont tous dans le même sens (**Tableau 17**).

Tableau 17 : Importance de l'addition du leucate d'éthyle dans la RA (18 à 22) du vin (4) sur l'effet exhausteur dû à la fraction 17

Descripteurs	Echantillons *			Vin
	RA (18 à 22)	RA (17 à 22)	RA (18 à 22) + R/S 550µg/L leucate d'éthyle (95/5, m/m)	
FR	3,59 a	3,00 a	3,06 a	(4)
FN	1,76 a	2,76 b	2,94 b	
FF	2,64 a	3,64 b	3,82 b	
FC	3,23 b	2,35 a	2,41 a	

*p<0,05 ; Les valeurs avec des lettres différentes au sein de chaque ligne sont significativement différentes ; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés.

Même si les tests triangulaires ont montré globalement des différences entre RA (17 à 22) et RA (18 à 22) de 550 µg/L de R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m), le leucate d'éthyle et la fraction 17 conduisent tous les deux aux mêmes modifications du caractère fruité de la RA (18 à 22).

2. LE 2-HYDROXY-4-METHYLPENTANOATE D'ETHYLE ET L'ARÔME FRUITE DES VINS ROUGES

2.1 DISTRIBUTION ENANTIOMERIQUE ET TENEURS DANS LES VINS

Les analyses de 55 vins commerciaux de différents millésimes et origines ont révélé différents types de distributions (**Tableau 18**) (annexe 7).

Dans des vins secs du même âge, les teneurs en leucate d'éthyle sont généralement plus élevées dans les vins rouges que dans les vins blancs. De plus, pour chaque type de vin, les teneurs les plus élevées ont été trouvées pour les millésimes les plus anciens.

Dans les vins rouges, la concentration maximale était de 660 µg/L (Margaux, 2005) et la concentration minimale de 98 µg/L (Pessac-Léognan, 2010). La concentration moyenne du leucate d'éthyle est de d'environ 400 µg/L. Ces résultats corroborent ceux de Falcao *et al.* (2012). Au regard des ces teneurs, il semble que quelques dizaines de µg/L soient formés pendant la fermentation alcoolique. La conservation des vins est marquée par l'augmentation de sa concentration progressivement au cours du temps puis une stabilisation après environ quatre ans.

Dans les vins blancs, nos résultats montrent une teneur moyenne de 182 µg/L pour les vins des millésimes 2001 à 2010 qui peut aller jusqu'à 342 µg/L pour les millésimes plus anciens (1980-2000). Ces teneurs sont nettement supérieures à celles rapportées par Câmpeanu *et al.* (1998) dans des vins blancs secs du cépage indigène *Feteasca Regala* à l'issue de la fermentation alcoolique, de 30 à 90 µg/L.

Concernant la distribution énantiomérique du leucate d'éthyle, les vins blancs présentent, en général, uniquement la forme R, alors que les vins rouges présentent les deux énantiomères avec des ratios qui varient en fonction du vieillissement. Les plus grandes concentrations de la

forme S ont été trouvées dans des échantillons anciens. Le **Tableau 18** montre l'impact du vieillissement sur le rapport énantiomérique moyen R/S dans les vins rouges avec une moyenne d'environ 95/5.

La présence exclusive de la forme énantiomérique R a été constatée pour les vins rouges du millésime 2010, collectés et analysés 3 mois après la fermentation alcoolique. Lors de la conservation, l'énantiomère S se forme, et ce dès la première année. La présence de l'énantiomère S au niveau le plus important a été trouvée dans un vin de 1990 de l'appellation Margaux avec un rapport énantiomérique R/S de 85/15. Dans les vins rouges, les concentrations les plus élevées de l'isomère S ont été trouvées dans les échantillons le plus anciens (**Tableau 18**) avec une concentration maximale de 62 µg/L (Haut-Médoc, 1982).

Tableau 18 : Concentrations des énantiomères du leucate d'éthyle (µg/L) dans les vins

Type d'échantillon	millésimes	Nombre de vins analysés	Concentration moyenne du RS-leucate d'éthyle (µg/L)	Concentration moyenne du R-leucate d'éthyle (µg/L)	Concentration moyenne du S-leucate d'éthyle (µg/L)	Ratio moyen R/S
Vin Rouge	1980 – 1990	10	408±118	371±113	32±16	91/9 ±5
	1991 – 2000	10	449±125	431±122	18±13	96/4 ±3
	2001 – 2009	14	361±119	354±114	7±6	98/2 ±1
	2010	8	135±47	135±47	0±0	100/0 ±0
Vin Blanc	1980 – 2000	8	342±236	341±237	2±2	99/1 ±1
	2001 – 2010	5	182±121	182±121	0±0	100/0 ±0

± Écart type de la moyenne de concentration. Analyses effectuées en 2011.

Nous avons pu observer deux cas particuliers concernant les vins blancs : l'un d'entre eux présentait une concentration élevée en comparaison aux vins rouges (Pessac-Leognan, 1989 ; 827 $\mu\text{g/L}$) et un autre contenait la forme S avec un rapport énantiomérique R/S de 97/3 (Bordeaux, 1994).

Selon Diaz-Maroto *et al.* (2005), les esters éthyliques d'acides gras branchés tels que le leucate d'éthyle peuvent être formés lors de la fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae* à partir de l'acide aminé correspondant (ici la leucine) via leur transformation en α -oxoacides qui sont ensuite decarboxylés pour donner des aldéhydes qui sont eux-mêmes oxydés en acides correspondants. Le passage par l'intermédiaire α -oxoacide se traduirait par une perte de la chiralité due au carbone portant l'oxygène. Aussi cette voie métabolique ne semble pas, ici, pertinente dans la mesure où seule la forme R est présente à l'issue de la fermentation alcoolique.

Pour obtenir cette configuration R du leucate d'éthyle à partir de la L-leucine, il faut passer par un mécanisme concerté avec attaque nucléophile par la face opposée au groupement amino (**Figure 15**).

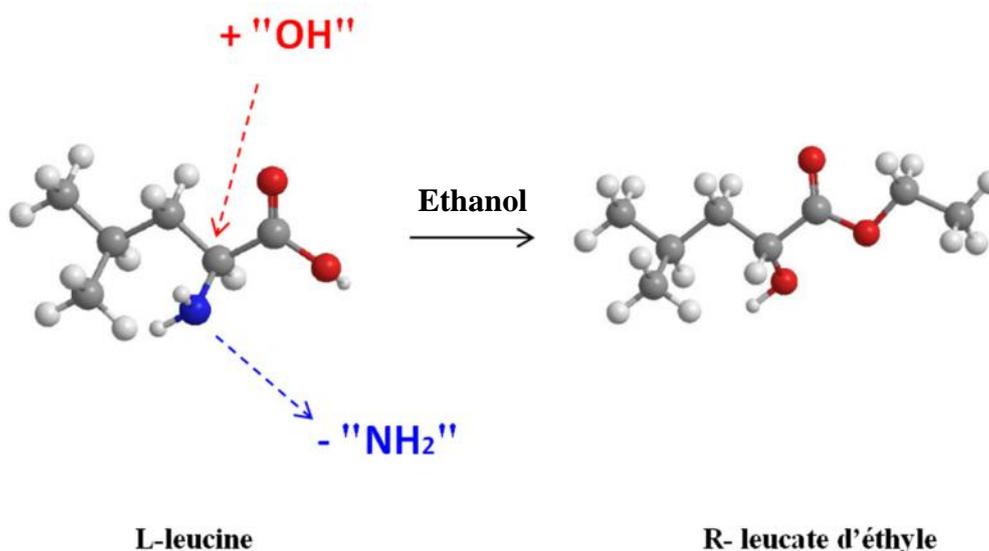


Figure 15 : Formation du R-leucate d'éthyle à partir l'acide aminé correspondant.

Sa concentration augmente également au cours du vieillissement, ce qui laisse penser qu'elle pourrait être formée par estérification de l'acide correspondant. L'origine de l'énantiomère S est, quant à elle, bien plus complexe que prévue : elle est présente uniquement dans les vins rouges, sauf cas particuliers, et n'est observée qu'à partir de la deuxième année de vieillissement.

Les origines du leucate d'éthyle paraissent donc multiples et leur élucidation nécessitera une investigation particulière.

2.2 IMPACT ORGANOLEPTIQUE DIRECT

2.2.1 Effet quantitatif

Dans le but d'étudier l'impact quantitatif du leucate d'éthyle, des seuils de perception ont été déterminés par le panel 4 dans des matrices différentes, selon la méthodologie décrite dans le paragraphe 2.2.1.2 du chapitre II. Le seuil de perception du R-leucate d'éthyle en solution hydroalcoolique est de 126 $\mu\text{g/L}$, soit presque le double de celui de la forme S, qui est de 56 $\mu\text{g/L}$ (**Figure 16**). Ces résultats ont démontré clairement que les seuils étaient fortement dépendants de la stéréochimie de l'odorant. Le seuil de perception du mélange R/S-leucate d'éthyle présentant un rapport énantiomérique de 95/5 est de 52 $\mu\text{g/L}$, suggérant la contribution des deux formes énantiomériques à l'arôme fruité.

Les seuils de perception des énantiomères R, S et de leur mélange (95/5, m/m) ont été également déterminés dans un vin rouge désaromatisé. La désaromatisation du vin permet d'éliminer du milieu les composés aromatiques volatils mais respecte les éléments non volatils du vin : la force ionique, en particulier, est conservée et ce vin reste néanmoins beaucoup plus proche d'un vin rouge qu'une simple solution modèle.

Les seuils de perception des énantiomères R, S, et de leur mélange (95/5, m/m) dans le vin rouge désaromatisé sont respectivement de 432, 177, et 73 $\mu\text{g/L}$, révélant un effet matrice clair (**Figure 16**).

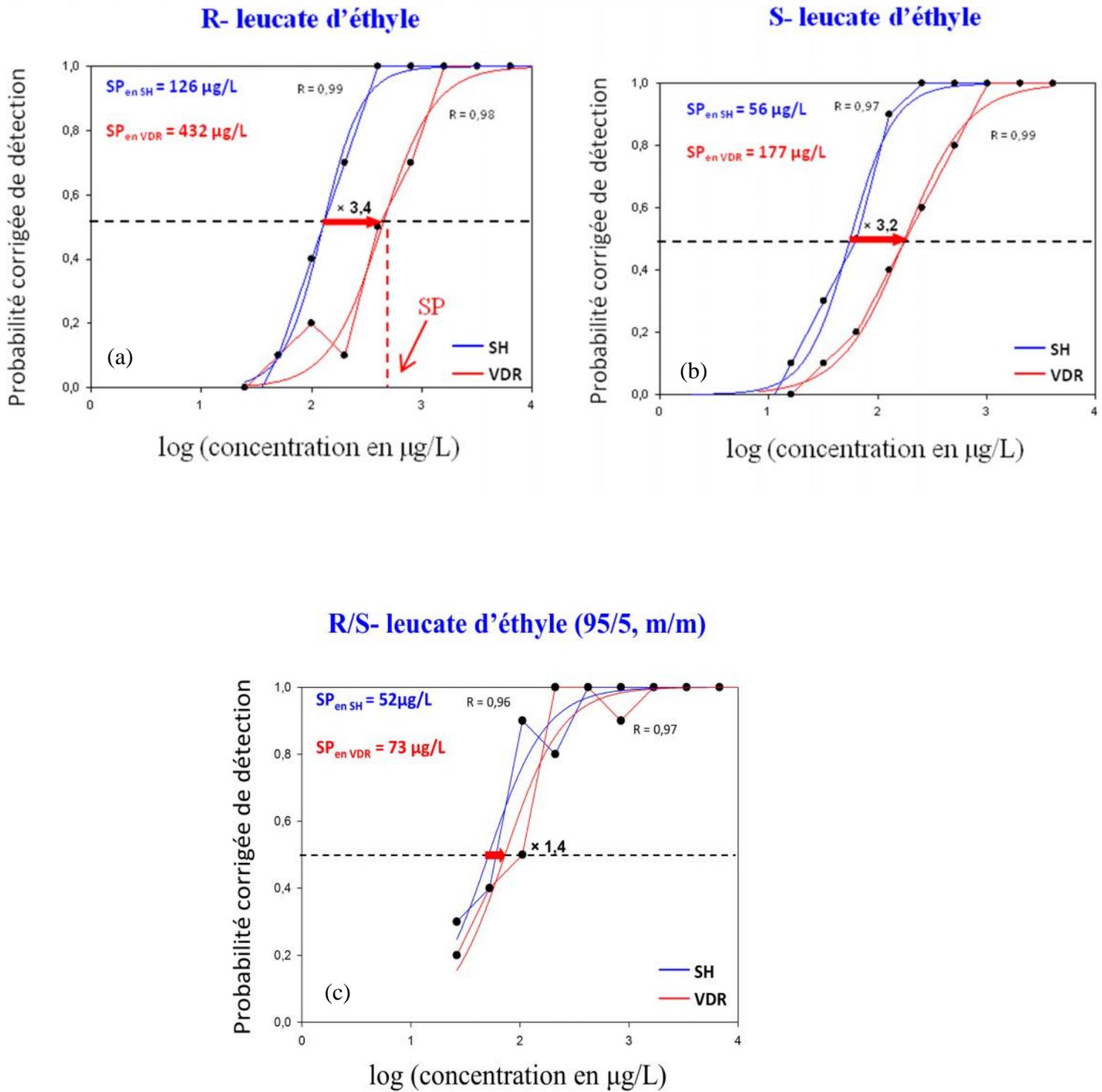


Figure 16 : Probabilités de détection du leucate d'éthyle dans deux matrices différentes. SH, solution hydroalcoolique ; VDR, vin rouge désaromatisé SP, seuil de perception. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

Au sein de chaque matrice, les seuils de perception de chaque énantiomère sont différents. Cette observation corrobore celles de différents auteurs rapportant que le seuil de perception et les descripteurs d'un composé odorant peuvent varier selon l'énantiomère considéré (Rienäcker et Ohloff, 1961 ; Kinlin *et al.*, 1972 ; Brenna *et al.*, 2003 ; Tominaga *et al.*, 2006 ; Pons *et al.*, 2008).

Comme représenté sur la **Figure 16**, la comparaison des seuils de perception de chacun des composés dans les deux matrices a révélé que ceux des formes R (a), S (b) et de leur mélange (95/5, m/m) (c) étaient respectivement 3,4 (a), 3,2 (b) et 1,4 (c) fois plus élevés dans le vin rouge désaromatisé que en solution hydroalcoolique.

Ces valeurs de seuils de perception plus élevées dans du vin rouge désaromatisé qu'en solution hydroalcoolique montrent que la composition non-volatile de la matrice peut influencer la perception de la note fruitée des vins. Ces phénomènes ont déjà été abordés dans l'étude bibliographique, notamment pour les interactions entre des composés volatils et les composés non-volatils du vin comme les composés phénoliques (Dufour et Bayonove, 1999b ; Rocha *et al.*, 2001 ; Dufour et Sauvaitre, 2000 ; Aronson et Ebeler, 2004 ; Lorrain *et al.*, 2012) les polysaccharides (Dufour et Bayonove, 1999a), ou le dioxyde de soufre et les catéchols (Ferreira *et al.*, 2003).

Pour un composé à une concentration supraliminaire donnée, plus son seuil de perception est bas, plus l'intensité de son odeur est élevée. On observe ici un seuil de perception du mélange systématiquement inférieur à celui de sa composante ayant le seuil de perception le plus faible : cela peut suggérer un effet d'hyper-addition.

Le comportement en mélange des énantiomères R et S (95/5, m/m) dans différentes matrices (solution hydroalcoolique et vin rouge désaromatisé), a été évalué en utilisant le modèle d'additivité proposé par Feller (1968). Ce mélange n'est, en effet, rien d'autre qu'un mélange binaire particulier. Ce modèle doit nous permettre de distinguer si le comportement de ces deux isomères en mélange relève effectivement de l'hyper-addition ou de la simple addition.

Théoriquement pour le phénomène d'addition, la probabilité de détection du mélange $p(RS)$ doit être identique à $p(R) + p(S) - p(R)p(S)$, où $p(R)$ représente la probabilité de détection de la forme énantiomérique R et $p(S)$ représente la probabilité de détection de la forme énantiomérique S. Si la probabilité de détection théorique ($p(RS)$) pour le mélange est

supérieure à la probabilité de détection expérimentale, cela indique un effet de suppression. Une probabilité de détection inférieure indique un effet d'hyper-addition.

Les valeurs de $p(R)$ et la courbe psychométrique de la probabilité de détection ont déjà été obtenues (**Figure 16a**). Les probabilités de réponse $p(S)$ pour la gamme de concentrations utilisées en mélange (1,3 / 2,6 / 5,2 / 10,5 / 20,9 / 41,8 / 83,6 / 167,3 / 334,5 / 669 $\mu\text{g/L}$) ont été calculées pour les deux matrices différentes à partir des équations des courbes sigmoïdes obtenues lors la détermination des seuils de perception de chaque isomère optique (**Figure 16b**).

Un exemple de calcul de la probabilité de détection estimée par le modèle de Feller est présenté dans le **Tableau 19**.

Tableau 19 : Probabilités de détection du mélange énantiomérique R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) en solution hydroalcoolique : valeurs obtenues expérimentalement et estimées selon le modèle de Feller

Concentrations ($\mu\text{g/L}$)			$p(R)$	$p(S)$ calculée	$p(R/S)$ expérimentale	$p(R/S)$ estimée par le modèle de Feller
R hors mélange	S hors mélange	R/S (95/5)	= ((3* proportion de réponses correctes) - 1) / 2			= $p(R) + p(S) - p(R)p(S)$
25	1,31	26,31	-0,10	0,0003	0,30	-0,10
50	2,61	52,61	0,10	0,0014	0,40	0,10
100	5,23	105,23	0,40	0,0061	0,90	0,40
200	10,45	210,45	0,70	0,03	0,80	0,71
400	20,91	420,91	1,00	0,11	1,00	1,00
800	41,81	841,81	1,00	0,35	1,00	1,00
1600	83,63	1683,63	1,00	0,71	1,00	1,00
3200	167,25	3367,25	1,00	0,91	1,00	1,00
6400	334,50	6734,50	1,00	0,98	1,00	1,00
12800	669,00	13469,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Pour les deux matrices, solution hydroalcoolique et vin rouge désaromatisé, la probabilité de détection du mélange $p(RS)$ estimée par le modèle de Feller est inférieure à la probabilité expérimentale (**Figure 17**), révélant un effet d'hyper-addition entre les deux formes énantiomériques de ce mélange binaire ($p < 0,001$).

En solution hydroalcoolique, les seuils de perception du mélange R/S-leucate d'éthyle, expérimental et estimé avec l'application du modèle de Feller étaient respectivement de 52 et 135 $\mu\text{g/L}$. Dans la matrice vin rouge désaromatisé, les seuils de perception du mélange R/S-leucate d'éthyle, expérimental et estimé avec l'application du modèle de Feller étaient respectivement de 73 et 430 $\mu\text{g/L}$. La comparaison entre les deux seuils de perception, a révélé que les seuils de perception expérimentaux étaient respectivement 2,53 et 5,88 fois plus faibles en solution hydroalcoolique et en vin rouge désaromatisé que ceux estimés par le modèle de Feller ($p < 0,001$).

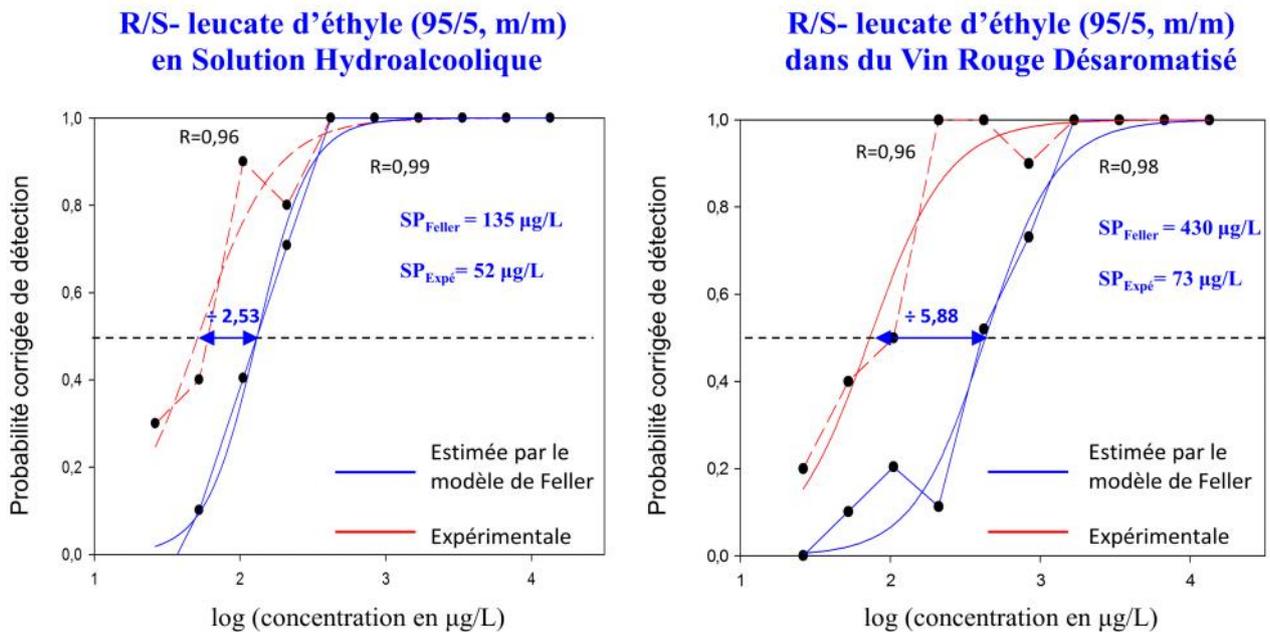


Figure 17 : Probabilités de détection du mélange énantiomérique R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) déterminés expérimentalement et calculés selon le modèle de Feller dans deux matrices différentes. SP_{Feller} , seuil de perception estimé avec l'application du modèle de Feller ; $SP_{Expé}$, seuil de perception expérimental. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

Afin de mieux comprendre l'interaction perceptive remarquable impliquant le leucate d'éthyle dans l'expression du caractère fruité, son seuil de perception a été établi dans la reconstitution aromatique obtenue à partir de fractions fruitées après le fractionnement par CLHP. Dans le chapitre III nous avons étudié la répartition des esters dans les fractions obtenues par CLHP. Les esters éthyliques et les acétates avec des notes fruitées sont répartis dans les fractions 17 à 22, le leucate d'éthyle étant le seul ester élué dans la fraction 17. Ainsi, il fût facile d'obtenir un pool d'esters fruités du vin sans la présence du leucate d'éthyle : il s'agit simplement de la RA (18 à 22).

Comme représenté sur la **Figure 18**, la comparaison des seuils de perception de chacun des composés dans les deux matrices a révélé que ceux des formes R (a), S (b) et de leur mélange (95/5, m/m) (c) étaient respectivement 9,4 (a), 9,7 (b) et 5,1 (c) fois plus élevés dans la RA (18 à 22) que en solution hydroalcoolique ($p < 0,001$).

Les seuils de perception des formes R, S, et de leur mélange (95/5, m/m) ont été déterminés par le panel 3 dans deux matrices différentes (solution hydroalcoolique et RA (18 à 22)). En solution hydroalcoolique, les seuils de perception des formes R, S, et de leur mélange (95/5, m/m) sont respectivement de 167, 70 et 90 $\mu\text{g/L}$. Mesuré dans la RA (18 à 22), les seuils de perception des formes R, S, et de leur mélange (95/5, m/m) sont respectivement de 1576, 688 et 460 $\mu\text{g/L}$.

Ce type de méthodologie a déjà été utilisé dans des études précédentes. Par exemple Romano *et al.* (2009) ont démontré que l'ajout des acides isobutyrique et isovalérique au vin a entraîné une augmentation remarquable du seuil de perception des éthylphénols.

Ces résultats ont montré que la matrice fruitée plus complexe pouvait être à l'origine d'un effet de masquage sur la perception du leucate d'éthyle. Malgré des seuils de perception élevés, dans cette matrice fruitée, on remarque que celui du mélange R- et S-leucate d'éthyle (95/5, m/m), de 460 $\mu\text{g/L}$ est assez proche de la teneur moyenne trouvée dans les vins (environ 400 $\mu\text{g/L}$). Ces résultats témoignant d'un effet de masquage, dû à la complexité de la matrice, vont dans le même sens que nombre d'autres (Darriet *et al.*, 1995 ; Mestres *et al.*, 2000 ; Plotto *et al.*, 2004 ; Le Berre *et al.*, 2007, Pineau *et al.*, 2007).

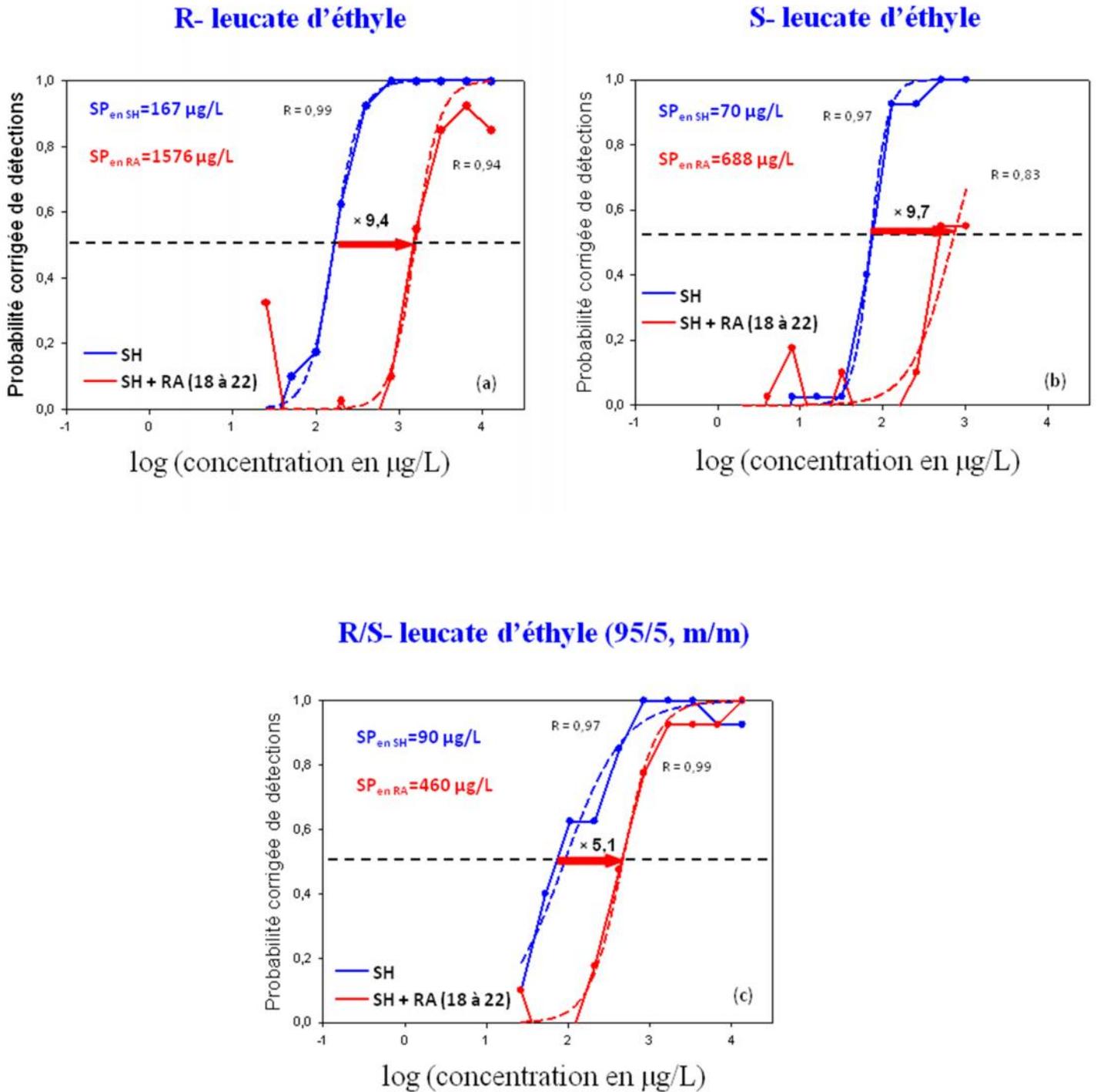


Figure 18 : Effet de la matrice sur la probabilité de détection du leucate d'éthyle. SH, solution hydroalcoolique ; SP, seuil de perception. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

Malgré cet impact de la matrice affectant fortement la perception du leucate d'éthyle, la comparaison des données expérimentales à celles issues du modèle de Feller montre que le mélange du R/S-leucate d'éthyle a un comportement similaire à celui observé en solution hydroalcoolique ou dans du vin désaromatisé. La probabilité de détection du mélange p(RS) estimée par le modèle de Feller est inférieure à la probabilité expérimentale (**Figure 19**), révélant un effet d'hyper-addition entre les deux formes énantiomériques du leucate d'éthyle dans la matrice fruitée considérée.

En effet les seuils de perception du mélange R/S-leucate d'éthyle, expérimental et estimé selon le modèle de Feller sont respectivement de 460 et 1615 µg/L, soit un seuil de perception expérimental 3,51 fois plus faible que celui estimé par le modèle de Feller ($p < 0,001$).

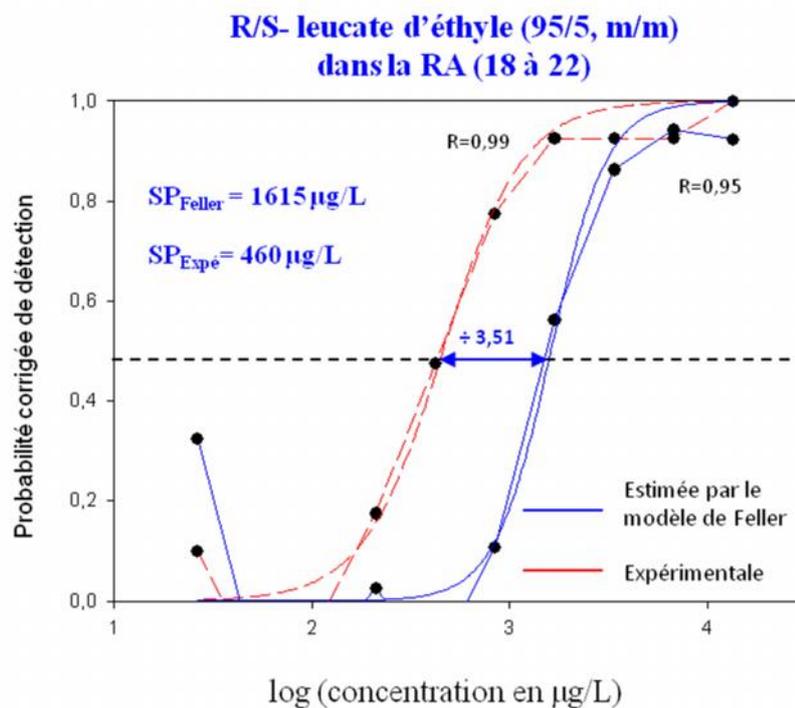


Figure 19 : Probabilités de détection du mélange énantiomérique R/S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) déterminés expérimentalement et calculés selon le modèle de Feller dans la RA (18 à 22). SP_{Feller} , seuil de perception estimé avec l'application du modèle de Feller ; $SP_{Expé}$, seuil de perception expérimental. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

2.2.2 Effet qualitatif

Des analyses descriptives réalisées par le panel 4 ont montré que les isomères optiques du leucate d'éthyle présentaient des nuances aromatiques assez similaires. Les participants ont été invités à choisir un maximum de trois descripteurs d'une liste de 26. En utilisant des concentrations de 800 et 150 µg/L de respectivement R- et S-leucate d'éthyle, concentrations perçues par l'ensemble du panel, l'odeur des formes R et S a été principalement définie par des descripteurs de type fruits noirs : 14 sur 15 sujets et 12 sur 15 sujets ont choisi des descripteurs de fruits noirs pour respectivement la forme R et S. Plus précisément, des descripteurs "mûre" et "confiture de mûre" ont eu la fréquence de citation la plus élevée : 8 sur 15 sujets ont choisi ces descripteurs de fruits noirs pour deux formes R et S (**Tableau 20**).

Tableau 20 : Nombre de citations de certains descripteurs pour le R- et le S-leucate d'éthyle

DESCRIPTEURS	R-leucate d'éthyle	S-leucate d'éthyle
rose	1	
groseille		1
beurre		1
banane	1	1
caramel		
confiture de fraise	1	1
violette		
rose fanée		1
bourgeon de cassis	2	1
poivron vert		1
confiture de mûre	4	4
vanille		
fraise		1
tabac		
cassis	2	2
olive noire	1	
mûre	4	4
réglisse, anis		1
pomme	1	2
champignon		
framboise	1	1
bois de chêne "frais"		
cerise	1	
clou de girofle		
pruneaux		
myrtille	2	1
fruit noir	14	12
confiture de mûre / mûre	8	8

2.3 IMPACT ORGANOLEPTIQUE INDIRECT

Les données concernant l'impact du leucate d'éthyle ont relevé qu'il se trouvait généralement, à des niveaux légèrement supérieurs à son seuil de perception en solution hydroalcoolique et dans du vin rouge désaromatisé, sans pour autant montrer que ce composé jouait le rôle d'un composé clé dans l'arôme du vin rouge.

Il semblait donc indispensable d'évaluer la contribution indirecte du leucate d'éthyle à l'arôme du vin. A partir de fractions obtenues par CLHP, des reconstitutions aromatiques fruitées ont été élaborées et l'impact de la présence du leucate d'éthyle sur leur perception a été étudié.

Des seuils de perception "particuliers" ont ainsi été établis. Le "seuil de perception" de la RA (18 à 22) a été ainsi mesuré en solution hydroalcoolique, contenant, ou pas, les énantiomères du leucate d'éthyle aux concentrations moyennes de la forme R, S et de leur mélange (95/5, m/m) trouvés dans les vins rouges, comme spécifié dans la **Figure 20**.

Les reconstitutions aromatiques élaborées à partir des fractions obtenues par CLHP ont été préparées en assemblant seulement les fractions 18 à 22 et en les mettant en solution de telle sorte qu'un verre de 50 mL corresponde au volume de 0,3 / 0,6 / 1,3 / 2,5 / 5 / 10 / 20 / 40 / 80 et 160 mL du vin à l'origine de ces fractions.

Comme représenté sur la **Figure 20**, quand la solution hydroalcoolique a été enrichie avec 400 µg/L de R-leucate d'éthyle (a), 20 µg/L de S-leucate d'éthyle (b), et 420 µg/L du mélange R- et S-leucate d'éthyle (95/5, m/m) (c), le "seuil de perception" de la RA (18 à 22) a été diminué respectivement de 2,2 (a), 4,5 (b) et 2,5 (c) fois ($p < 0,001$). Cette diminution du seuil de perception, suggère une augmentation de l'intensité du pool fruité en présence du leucate d'éthyle, démontrant ainsi un effet d'hyper-addition de cet ester éthylique sur la perception fruitée du vin.

Ces résultats indiquent une contribution indirecte forte du leucate d'éthyle à l'arôme du vin, démontrant que la présence de cet ester renforce la perception du caractère fruité de l'ensemble et soulignant son rôle en tant qu'exhausteur de l'arôme fruité.

En effet, rares sont les exemples d'hyper-addition dans des mélanges complexes. Ribéreau-Gayon *et al.* (1975) ont montré l'existence de phénomènes de ce type dans un mélange complexe constitué de 8 composés terpéniques.

Un effet exhausteur du leucate d'éthyle a été aussi décrit par Luccarelli *et al.* (1984) qui ont démontré que la présence de cet ester mélangé avec des acides alcanoniques, de 4 à 10 atomes de carbone, renforçait les arômes de fruits tropicaux.

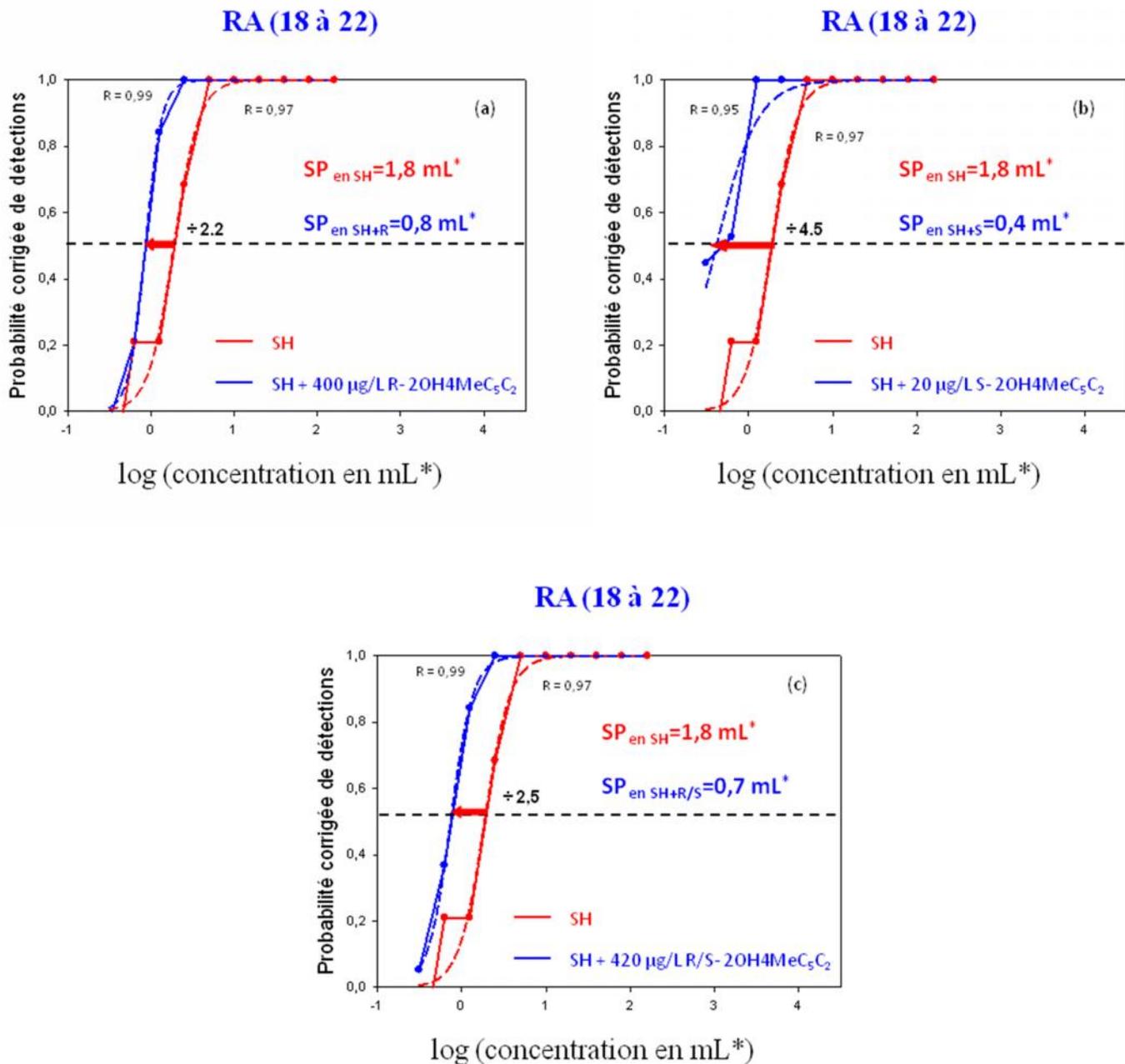


Figure 20 : Effet de la présence du leucate d'éthyle sur la probabilité de détection de la RA (18 à 22). *exprimée en volume de vin mL dans 50 ml de matrice. SH, solution hydroalcoolique ; SP, seuil de perception ; 2OH4MeC₅C₂, leucate d'éthyle. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

**V. ETUDE DE LA MODULATION DU CARACTERE FRUITE
DES VINS ROUGES PAR DES COMPOSES NON FRUITES**

1. ORIGINE DE L'EFFET DE MASQUAGE DU CARACTERE FRUITS FRAIS ET D'AMPLIFICATION DU CARACTERE FRUITS CONFITURES

L'effet de l'addition des fractions 3 à 5 à la reconstitution aromatique fruitée a été évalué grâce à la réalisation de tests triangulaires et à l'établissement de profils sensoriels. Nous avons pu mettre en évidence quelques interactions perceptives particulières comme un masquage pour des notes de fruits frais s'accompagnant de l'augmentation de celles de fruits confiturés (chapitre III). Ces résultats, indiquent que les fractions 3 à 5, de caractère lacté/beurré peuvent contribuer aux notes fruitées de l'ensemble, suggérant que leurs constituants peuvent conduire aux mêmes effets sur ces notes. Afin d'évaluer d'une façon plus explicite cette interaction perceptive, la caractérisation des constituants de ces fractions 3 à 5 paraissait donc indispensable.

1.1 MISE EN EVIDENCE ET QUANTIFICATION DES CONSTITUANTS DES FRACTIONS IMPLIQUEES

L'analyse de la composition des fractions 3 à 5 a été effectuée par chromatographique en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse.

Les analyses olfactométriques qui témoignent de la complexité aromatique des fractions 3 à 5 nous ont permis d'identifier plusieurs zones odorantes (ZO) qui sont présentées dans le **Tableau 21**. Nous nous sommes focalisés sur les notes correspondant à l'odeur globale des fractions ainsi que sur celles les plus intenses. Ainsi nous nous sommes attachés aux zones odorantes élues à 9,3 ; 21,2 ; 28,5 et 37 min.

Dans un second temps, grâce à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse nous nous sommes attachés à identifier les composés à l'origine de ces ZO. Le chromatogramme en mode scan représenté dans la **Figure 21** montre quatre pics très majoritaires par rapport à tous les autres et qui présentent les mêmes ILR que les ZO précitées.

Tableau 21 : Olfactogramme obtenu suite à l'analyse sur colonne BP21 de l'extrait aromatique de la RA (3 à 5)

Temps (min)	Descripteur Aromatique
9,3	lacté
10,02	chocolat
10,50	viande / grillé
10,29	pomme de terre cuite / potage de légumes
11,91	plastique
13,62	sucre brûlé
14,46	pain grillé / cacahuète
17,84	sucre brûlé
18,39	chocolat
18,80	amande grillée
19,20	oignon / souffré
19,90	café / réduit / chou
21,2	réduit / lacté / fromage
21,38	vanille / sucrée
22,09	pomme de terre cuite
24,01	fruit confit / barbe à papa
26,72	noix
26,85	floral, rose fanée
27,20	sucre brûlé
28,5	vinaigre / piquant
29,46	pain grillé
30,56	réduit
31,62	très réduit
32,09	potage de légumes
37,00	réduit / lacté / crémeux
40,40	sucre brûlé
46,20	café grillé / sucre brûlé / fruit cuit
47,50	chocolat noir / chocolat/caramel
48,00	cerise confite
49,89	fruit confit
50,31	sucre brûlé
53,00	chocolat / liqueur de cerise
53,94	amande grillée / sucre brûlé
56,00	pruneau

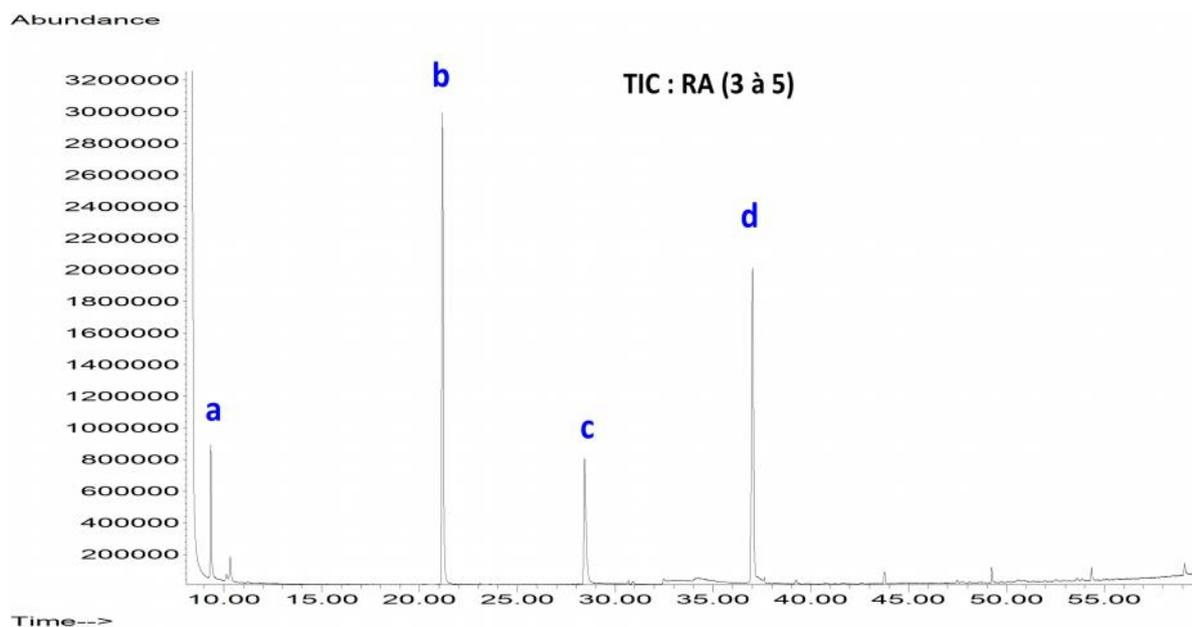


Figure 21 : Chromatogramme, en mode scan, de l'extrait brut de la reconstitution aromatique des fractions 3 à 5.

Les spectres de masses correspondant à ces zones odorantes sont comparés avec ceux enregistrés dans la bibliothèque NIST et ceux obtenus à partir des produits purs correspondants. Ces données sont présentées dans la **Figure 22**. Les ILR des pics chromatographiques obtenus, et des produits de référence sont également comparés. Ces données nous indiquent qu'il s'agit du (a) diacétylène (D), (b) de l'acétoïne (A), (c) de l'acide acétique (Ac) et (d) de la γ -butyrolactone (GBL) (**Figure 21**).

Ces composés sont des constituants bien connus de l'arôme secondaire des vins. On peut les relier d'une part au métabolisme des levures fermentaires et d'autre part à celui des bactéries lactiques (Bertrand, 1983 ; de Revel, 1992 ; Joyeux *et al.*, 1984 ; Masneuf-Pomarède *et al.*, 2010 ; Webb et Kepner, 1962 ; Ugliano et Moio, 2005).

Même si l'origine et les propriétés organoleptiques directes de ces composés ont été décrites en détail, la bibliographie ne révèle pas de données concernant leur impact sur l'expression des arômes fruités ni même sur leur comportement en mélange.

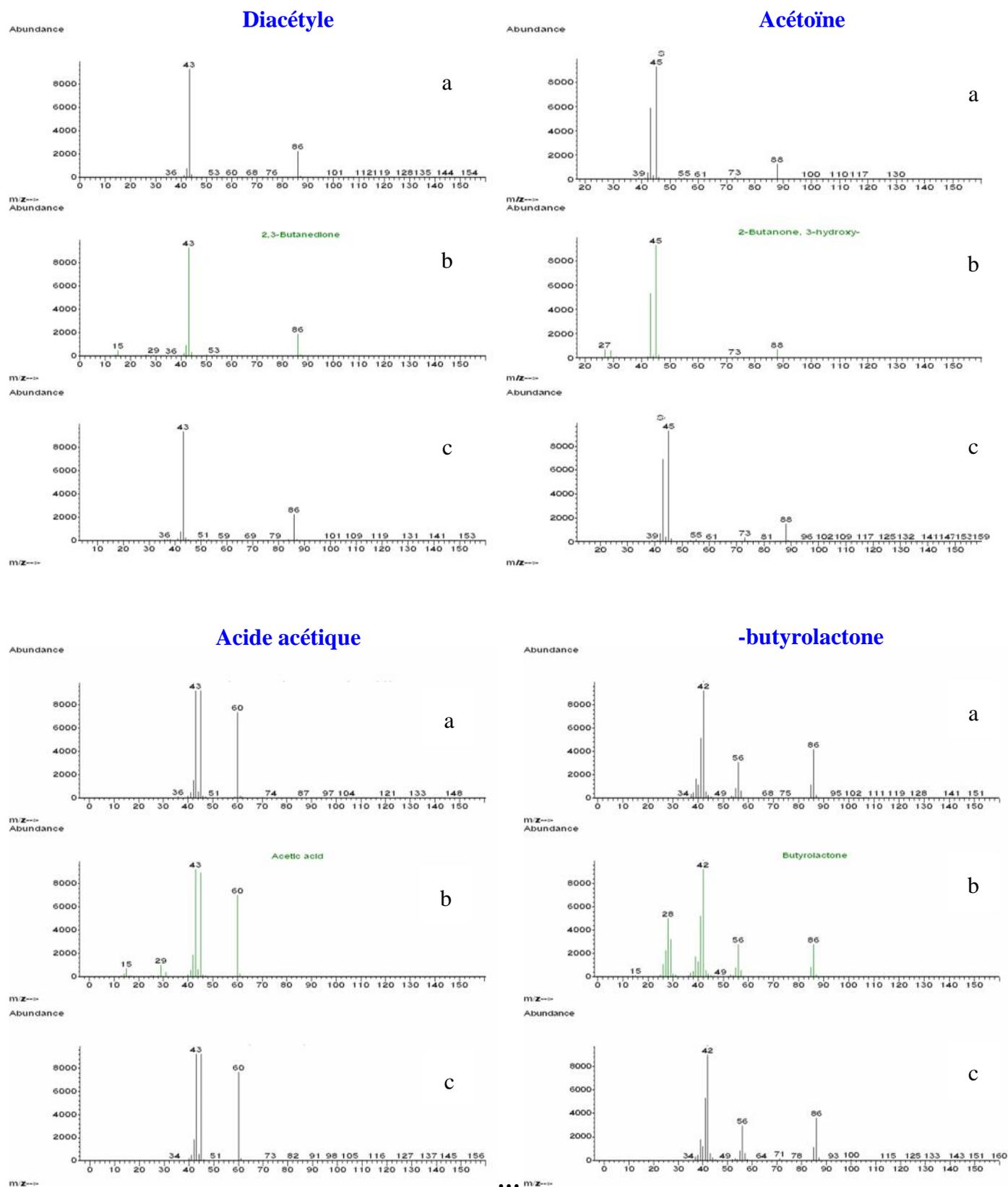


Figure 22 : (a) Spectres de masse des composés dans la RA (3 à 5). (b) Spectres de masse des composés selon NIST 2008. (c) Spectres de masse des composés de référence.

Dans le but d'étudier l'impact organoleptique du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la -butyrolactone et de réaliser des reconstitutions aromatiques fidèles aux observations préalables, il était dans un premier temps nécessaire de déterminer leurs teneurs dans les fractions 3 à 5. Les teneurs en ces composés dans les reconstitutions aromatiques préparées à partir des fractions 3, 4 et 5 sont présentées dans le **Tableau 22**.

Tableau 22 : Teneurs apportées par les fractions 3, 4 et 5 aux reconstitutions aromatiques (mg/L)

	RA (3)	RA (4)	RA (5)	RA (3 à 5)
diacétyl	0,7	1,3	2	4
acétoïne	2,1	1	0,1	3,2
acide acétique	20	3	2	25
-butyrolactone	1,1	1,4	6	8,5

1.2 RÔLE DU DIACÉTYL, DE L'ACÉTOÏNE, DE L'ACIDE ACÉTIQUE ET DE LA -BUTYROLACTONE DANS CES EFFETS PERCEPTIFS

Les résultats des tests triangulaires, rapportés dans le **Tableau 23** ont confirmé que l'addition des fractions 3 à 5 à la RA (17 à 22) a été significativement perçue (*test 1*). Ils ont également révélé que l'addition simultanée, à la RA (17 à 22), du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la -butyrolactone aux concentrations identiques à celles apportées par les fractions 3 à 5 du vin était également significativement perçue (*test 2*). Toutefois, lorsque la RA (17 à 22) supplémentée en diacétyl, acétoïne, acide acétique et -butyrolactone est comparée à la RA (17 à 22) additionnée des fractions 3 à 5, (*test 3*), plus de 80% des sujets ont discerné la différence entre les deux échantillons. Ceci démontre que l'addition de ces quatre composés ne conduit pas globalement aux mêmes résultats olfactifs que celle des fractions 3 à 5. Grâce à la réalisation de tests triangulaires, nous avons pu montrer qu'il n'était pas possible de reproduire dans son intégralité l'arôme de la RA (17 à 22 + 3 à 5) à l'aide du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la -butyrolactone (aux concentrations

identiques à celles apportées par les fractions 3 à 5), certainement à cause de la présence des autres composés élués dans ces fractions complexes.

Tableau 23 : Impact de l'addition à la RA (17 à 22) des fractions 3 à 5 ou du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5

Echantillons comparés			
<i>Test 1</i>	RA (17 à 22)	RA (17 à 22 + 3 à 5)	*
<i>Test 2</i>	RA (17 à 22)	RA (17 à 22) + 4 mg/L D + 3,2 mg/L A + 25 mg/L Ac + 8,5 mg/L GBL	*
<i>Test 3</i>	RA (17 à 22 + 3 à 5)	RA (17 à 22) + 4 mg/L D + 3,2 mg/L A + 25 mg/L Ac + 8,5 mg/L GBL	*

*, significatif au seuil de 0,1%.

Pour évaluer le rôle du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone dans le masquage de l'arôme de fruits frais et l'amplification de celui de fruits confiturés, des profils sensoriels concernant ces caractères aromatiques ont été réalisés (expérimentation 3). Trois reconstitutions aromatiques élaborées en solution hydroalcoolique modèle à partir des fractions fruitées du vin (1) ont été présentées au panel. La première se compose des fractions 17 à 22, la seconde se compose des ces mêmes fractions complétées avec les fractions 3 à 5 et enfin la troisième se compose de fractions fruitées 17 à 22 complétées avec du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone aux teneurs apportées à la reconstitution précédente par les fractions 3 à 5. Les résultats de profils sensoriels, élaborés en utilisant une échelle non structurée de 0 à 100 mm, sont rapportés dans le **Tableau 24**.

Des différences significatives ont été mises en évidence pour les descripteurs fruits frais et fruits confiturés entre la RA (17 à 22) et la RA (17 à 22) additionnée soit avec les fractions 3 à 5, soit simultanément avec le diacétyl, l'acétoïne, l'acide acétique et la γ -butyrolactone. Les

intensités moyennes pour les descripteurs fruits frais étaient significativement plus faibles et celles de fruits confiturés plus importantes que dans la RA (17 à 22).

Par ailleurs, ajoutés de concert à des concentrations identiques à celles retrouvées dans les fractions 3 à 5, le diacétyl, l'acétoïne, l'acide acétique et la γ -butyrolactone conduisent aux mêmes modifications olfactives que les fractions 3 à 5, masquant les notes de fruits frais et amplifiant celles de fruits confiturés.

Tableau 24 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22) de fractions 3 à 5 ou de diacétyl, acétoïne, acide acétique et γ -butyrolactone aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5 sur l'intensité fruitée

Descripteurs	Echantillons *		
	RA (17 à 22)	RA (17 à 22 + 3 à 5)	RA (17 à 22) + D + A + AC + GBL
FF	49,39 b	25,83 a	28,28 a
FC	20,83 a	47,00 b	42,94 b

* $p < 0,05$; Les valeurs avec des lettres différentes au sein de chaque ligne sont significativement différentes.

Même si les tests triangulaires ont montré globalement des différences entre la RA (17 à 22 + 3 à 5) et la RA (17 à 22) + 4 mg/L D + 3,2 mg/L A + 25 mg/L Ac + 8,5 mg/L GBL, le diacétyl, l'acétoïne, l'acide acétique et la γ -butyrolactone et les fractions 3 à 5 conduisent tous les deux aux mêmes modifications du caractère fruité de la RA (17 à 22).

Ces résultats nous incitent, pour aller plus avant, à hiérarchiser l'impact de chacun de ces quatre composés en considérant leur rôle à la fois individuellement et en association.

2. IMPACT DU DIACÉTYLE, DE L'ACÉTOÏNE, DE L'ACIDE ACÉTIQUE ET DE LA -BUTYROLACTONE, PRIS INDIVIDUELLEMENT ET EN MELANGES, SUR L'ARÔME FRUITÉ DES VINS ROUGES

2.1 PERCEPTION INDIVIDUELLE DE CES COMPOSES

Le **Tableau 25** présente l'effet de l'addition du diacétyle, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la -butyrolactone aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5 aux reconstitutions aromatiques.

Hormis pour le diacétyle, ces additions n'ont pas été significativement perçues (**Tableau 25, tests 1, 2 et 3**). Ces résultats nous laissent penser que l'acétoïne, l'acide acétique et la -butyrolactone se trouvent à des concentrations infraliminaires. Ces données sont en accord avec les seuils de perception élevés rapportés dans la littérature, avec des valeurs respectivement de l'ordre de 150 mg/L (Bertrand *et al.*, 1984), 200 mg/L (Guth, 1997) et 20 mg/L (Peinado *et al.*, 2004) en solution hydroalcoolique. L'acétoïne, l'acide acétique et la -butyrolactone ont donc été testés à des concentrations d'environ respectivement 2%, 12% et 40% de leurs seuils de perception.

Tableau 25 : Impact de l'addition à la solution hydroalcoolique de l'acétoïne, de l'acide acétique, de la -butyrolactone et du diacétyle, aux concentrations apportées par les fractions 3 à 5

Echantillons comparés			Différence observée
<i>Test 1</i>	SH	SH + 3,2 mg/L A	-
<i>Test 2</i>	SH	SH + 25 mg/L Ac	-
<i>Test 3</i>	SH	SH + 8,5 mg/L GBL	-
<i>Test 4</i>	SH	SH + 4 mg/L D	*

*, significatif au seuil de 0,1% ; -, aucune différence significative.

Le diacétyl a, quant à lui, été testé à une concentration supraliminaire, ce que confirment les données bibliographiques qui positionnent son seuil olfactif à un niveau nettement inférieur aux 4 mg/L testés dans le cadre à notre étude, soit entre 50 µg/L en solution hydroalcoolique (Selfridge et Amerine, 1978) et 2,8 mg/L dans un vin de Cabernet Sauvignon (Martineau *et al.*, 1995) (**Tableau 25**, *test 4*).

Afin de pouvoir déterminer le comportement individuel de ces quatre composés en dehors du mélange RA (17 à 22), une première série de profils sensoriels a consisté à évaluer la perception de l'intensité de l'arôme global, des notes de fruits frais et de celles de fruits confiturés de chaque composé pris isolément en solution hydroalcoolique. Ainsi, pour chaque composé, l'odeur d'une solution le contenant, aux concentrations identiques à celles apportées par les fractions 3 à 5 du vin (1), a été comparée à celle de la matrice hydroalcoolique. Les résultats de profils sensoriels, élaborés en utilisant une échelle non structurée de 0 à 100 mm, sont rapportés dans le **Figure 23**.

Les intensités moyennes de l'arôme global et des notes de fruits frais et de fruits confiturés semblent identiques dans la matrice hydroalcoolique et la matrice hydroalcoolique supplémentée avec de l'acétoïne, de l'acide acétique ou de la γ -butyrolactone. Ces derniers semblent n'avoir aucun impact aromatique sur l'expression des descripteurs considérés.

Au contraire, la présence du diacétyl dans la matrice hydroalcoolique a entraîné une augmentation significative de l'intensité de l'arôme global ainsi que de la note de fruits confiturés, ce qui démontre que le diacétyl semble être présent à une concentration supraliminaire et que notre panel a associé son caractère beurré/lactique à des arômes confiturés.

Les résultats obtenus lors de l'établissement de ces profils sensoriels sont en accord avec les tests triangulaires visant à estimer l'impact des composés en solution hydroalcoolique puisque les composés présents à des concentrations infraliminaires n'affectent pas l'intensité des descripteurs que nous avons évalués.

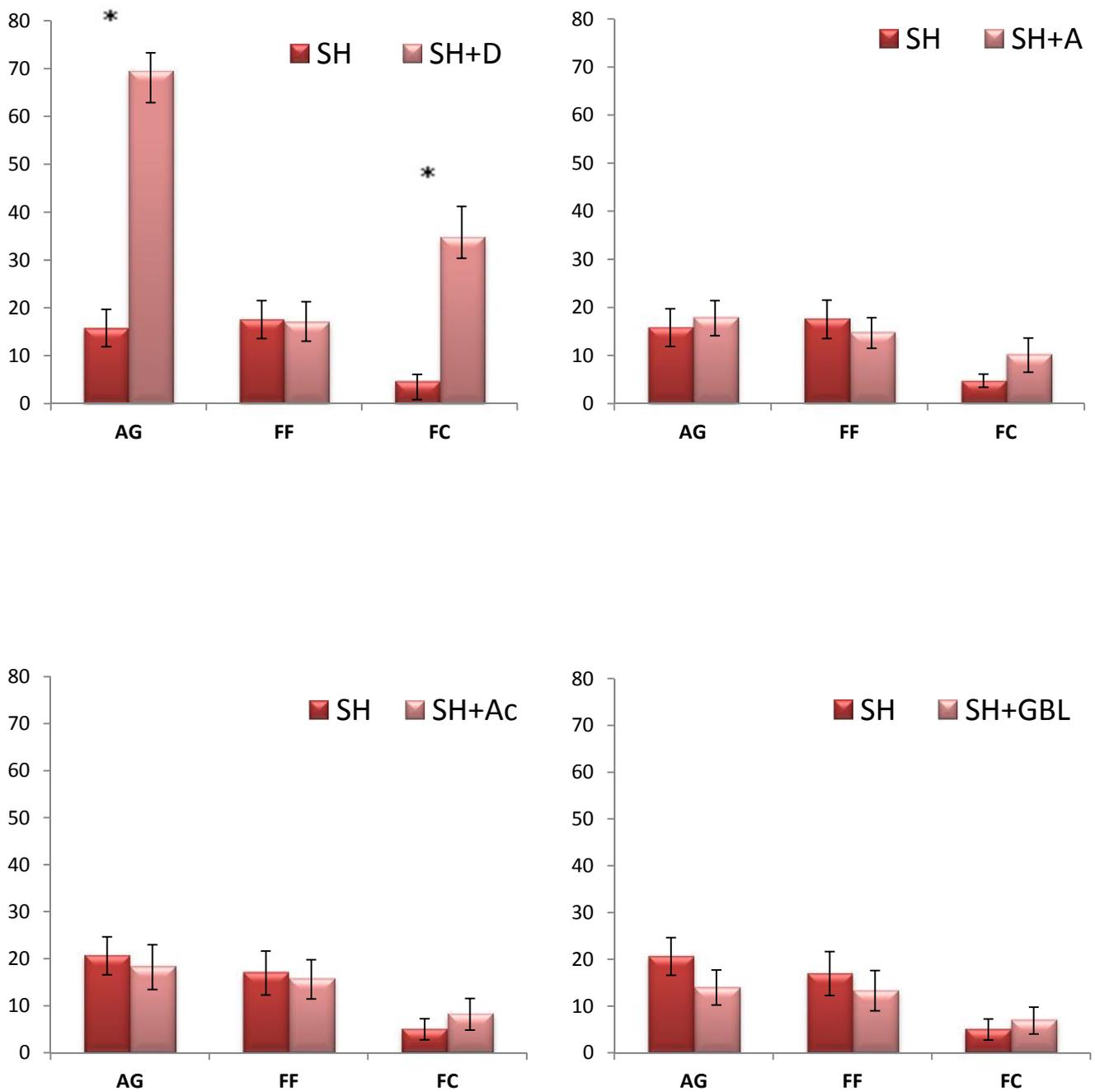


Figure 23 : Effet de l'addition du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone à la solution hydroalcoolique (SH). * $p < 0,05$; AG, arôme global ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés ; Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

2.2 EFFET DE LEUR PRESENCE, INDIVIDUELLE OU EN MELANGE, SUR L'ARÔME FRUITÉ

Afin d'appréhender plus complètement le rôle du diacétyle, de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone sur l'arôme global ainsi que sur la qualité du fruité (fruits frais et fruits confiturés) diverses reconstitutions aromatiques ont été préparées à partir de la RA (17 à 22) et des profils sensoriels, visant à évaluer l'intensité de ces trois descripteurs, élaborés selon la méthodologie décrite dans le paragraphe 2.2.2.2 du chapitre II.

Afin de pouvoir évaluer le comportement des divers mélanges d'odeurs selon le modèle de Patte et Laffort (1979), des profils sensoriels ont été réalisés sur ces mélanges ainsi que sur leurs deux composantes considérées séparément. Une des originalités de cette démarche est de se pencher sur des mélanges bien plus complexes que ceux étudiés jusqu'alors. Il reste extrêmement difficile, au niveau expérimental, pour des mélanges d'une telle complexité, de différencier rigoureusement la limite entre la notion de mélange hétérogène et de mélange homogène. Néanmoins au vu des modifications de l'odeur liées aux mélanges que nous avons pu constater et dans la mesure où nous sommes attachés aux mêmes descripteurs dans toutes les reconstitutions, nous avons considéré que cela relevait d'une approche correspondant aux mélanges homogènes. La terminologie utilisée pour expliquer les différents effets perceptifs correspond donc à celle des mélanges homogènes. Néanmoins, des termes destinés à qualifier des mélanges hétérogènes, comme le masquage, sont aussi parfois utilisées, et ce, car ces termes (hypo-addition/masquage) sont, d'une manière générique, utilisés dans la littérature pour décrire une diminution de l'intensité odorante.

Nous présentons, ici, les modifications de l'odeur de la reconstitution aromatique fruitée de base - en ce qui concerne l'intensité aromatique globale ainsi que celle des notes de fruits frais et de fruits confiturés - engendrées par les additions des différents constituants des fractions 3 à 5, seuls ou en mélange. Tour à tour, seront évalués l'impact de ces composés pris seuls, en mélange deux à deux, en mélange trois à trois et enfin ajoutés tous les quatre simultanément à la RA (17 à 22).

2.2.1 Effets sur l'intensité globale

Dans un premier temps l'impact de l'addition séparée de chacun des composés a été évalué. A titre d'exemple de la méthodologie utilisée pour les 16 mélanges étudiés (transposée également aux autres descripteurs présentés dans cette partie 2.2), les données obtenues pour le descripteur intensité globale relatives à l'ajout d'acétoïne à la RA (17 à 22) ainsi que les valeurs de tau () et sigma () sont présentées dans le **Tableau 26**.

Tau () correspond au rapport entre l'intensité de la RA (17 à 22) et la somme des intensités des reconstitutions aromatiques correspondant aux deux composantes du mélange isolément (fractions fruitées d'une part et acétoïne d'autre part). Sigma (), rapport entre l'intensité dans le mélange et la somme des intensités dans les deux composantes du mélange, reflète le niveau d'interaction (**Figure 24**).

Tableau 26 : Calcul des valeurs de Tau () et Sigma () pour le mélange de l'acétoïne avec la RA (17 à 22)

Sujets	$I_{RA (17 \text{ à } 22)}$	$I_{Acétoïne}$	$I_{mélange}$		
				$I_{RA (17 \text{ à } 22) + Acétoïne}$	$I_{mélange} / (I_{RA (17 \text{ à } 22)} + I_{Acétoïne})$
1	87	17	30	0,84	0,29
2	48	35	52	0,58	0,63
3	89	5	75	0,95	0,80
4	54	10	92	0,84	1,44
5	60	8	69	0,88	1,01
6	89	20	81	0,82	0,74
7	96	47	97	0,67	0,68
8	50	2	80	0,96	1,54
9	76	14	88	0,84	0,98
10	80	35	88	0,70	0,77
11	62	0	35	1,00	0,56
12	70	45	75	0,61	0,65
13	90	11	98	0,89	0,97
14	77	37	75	0,68	0,66
15	68	10	26	0,87	0,33
16	63	5	47	0,93	0,69
17	75	2	95	0,97	1,23
18	85	9	84	0,90	0,89
			Moyenne	0,83	0,83
			Intervalle de Confiance	0,06	0,15

Le résultat de ce premier exemple montre que l'addition de l'acétoïne dans la RA (17 à 22) a provoqué, malgré sa concentration infraliminaire, un effet significatif sur la diminution de l'intensité aromatique globale. La position du point expérimental dans le graphique proposé par Berglund *et al.* (1973) reflète le niveau d'interaction : il s'agit d'un effet d'hypo-addition. Néanmoins, en tenant compte des intervalles de confiance pour ces valeurs de τ et β , nous ne pouvons pas préciser s'il s'agit d'addition partielle ou de compromis.

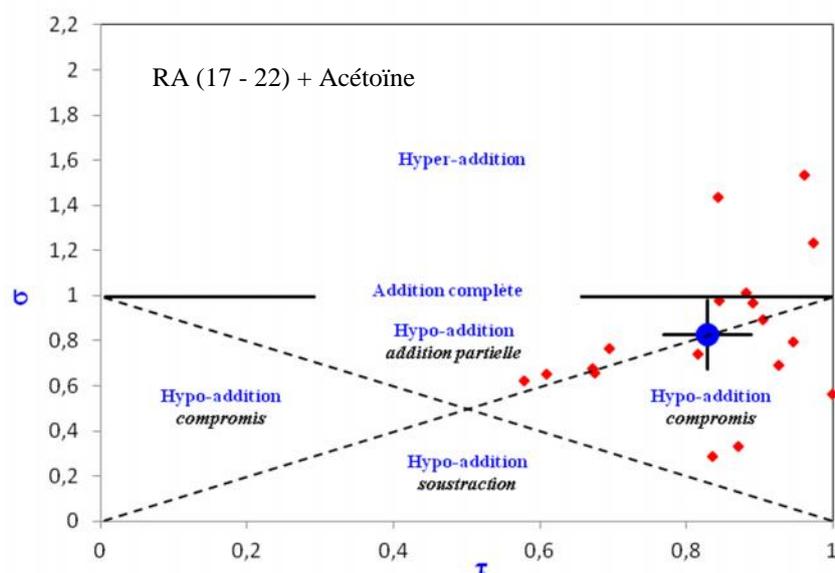


Figure 24 : Effet de l'addition de l'acétoïne sur l'odeur de la RA (17 à 22). Représentation graphique [$\beta = f(\tau)$] introduite par Patte et Laffort (1979). Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% autour des valeurs moyennes de τ et β .

Des effets d'hypo-addition ont également été observés pour les trois autres mélanges où les composés ont été additionnés séparément à la RA (17 à 22) (**Figure 25a**). L'ajout isolé du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone individuellement dans la RA (17 à 22) a provoqué une diminution significative de l'intensité aromatique, soulignant leur rôle de type masquage sur ce descripteur. Parmi les quatre mélanges étudiés, les valeurs de τ et β les plus faibles ont été trouvées pour celui contenant du diacétyl, ce qui souligne l'impact plus fort du diacétyl dans l'atténuation de l'intensité aromatique globale.

La **Figure 25b**, présente de très grands intervalles de confiance indiquant que les sujets ne sont pas d'accord sur les effets perceptifs après l'addition des composés deux à deux. A l'exception du mélange RA (17 à 22) + A + Ac où un niveau d'hypo-addition statistiquement significatif est atteint, les niveaux d'interaction des autres ne peuvent pas être explicités. Encore une fois, il a été observé que l'ajout de l'acétoïne et l'acide acétique par paire à des concentrations infraliminaires dans la RA (17 à 22), a un impact sur la diminution de l'arôme global.

L'addition des composés trois à trois à la RA (17 à 22) a conduit à chaque fois à un phénomène d'hypo-addition (**Figure 25c**). Un niveau de compromis a été observé pour tous les mélanges. Néanmoins, pour le mélange RA (17 à 22) + D + Ac + GBL, en tenant compte des intervalles de confiance pour les valeurs de μ et σ , nous ne pouvons pas rigoureusement préciser s'il s'agit d'addition partielle ou de compromis. Par ailleurs, la présence simultanée de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone dans la RA (17 à 22), tous les trois à des concentrations infraliminaires, entraîne une atténuation marquée de l'intensité globale, montrant que même à ces concentrations, ces composés ont un impact considérable sur l'intensité de l'ensemble.

Une diminution analogue de l'intensité de l'arôme global est observée lorsque les fractions 3 à 5 ou le mélange du diacétyle, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone sont additionnés à la RA (17 à 22) (**Figure 25d**). Pour les deux mélanges, RA (17 à 22) + D + A + Ac + GBL et RA (17 à 22) + F 3 à 5, le niveau d'interaction est le même et relève de l'hypo-addition. Nous observons même un chevauchement des intervalles de confiance à 95% pour les moyennes de μ et σ . Compte tenu, justement de ces intervalles de confiance, il ne nous est pas possible de préciser si nous sommes en face d'addition partielle ou de compromis.

Ces données révèlent des phénomènes particulièrement intéressants. Malgré leurs concentrations infraliminaires, l'acétoïne, la γ -butyrolactone et l'acide acétique, provoquent même individuellement, une diminution de l'intensité aromatique. Comme attendu, au regard de l'intensité du diacétyle hors mélange, il avait, seul, l'impact le plus fort dans l'atténuation de l'intensité aromatique globale. Néanmoins, la présence du diacétyle pour tous les mélanges où deux composés ont été ajoutés, provoque un désaccord entre les sujets sur les effets

perceptifs, alors que l'ajout de l'acétoïne et de la γ -butyrolactone a un impact significatif sur la diminution de l'arôme global.

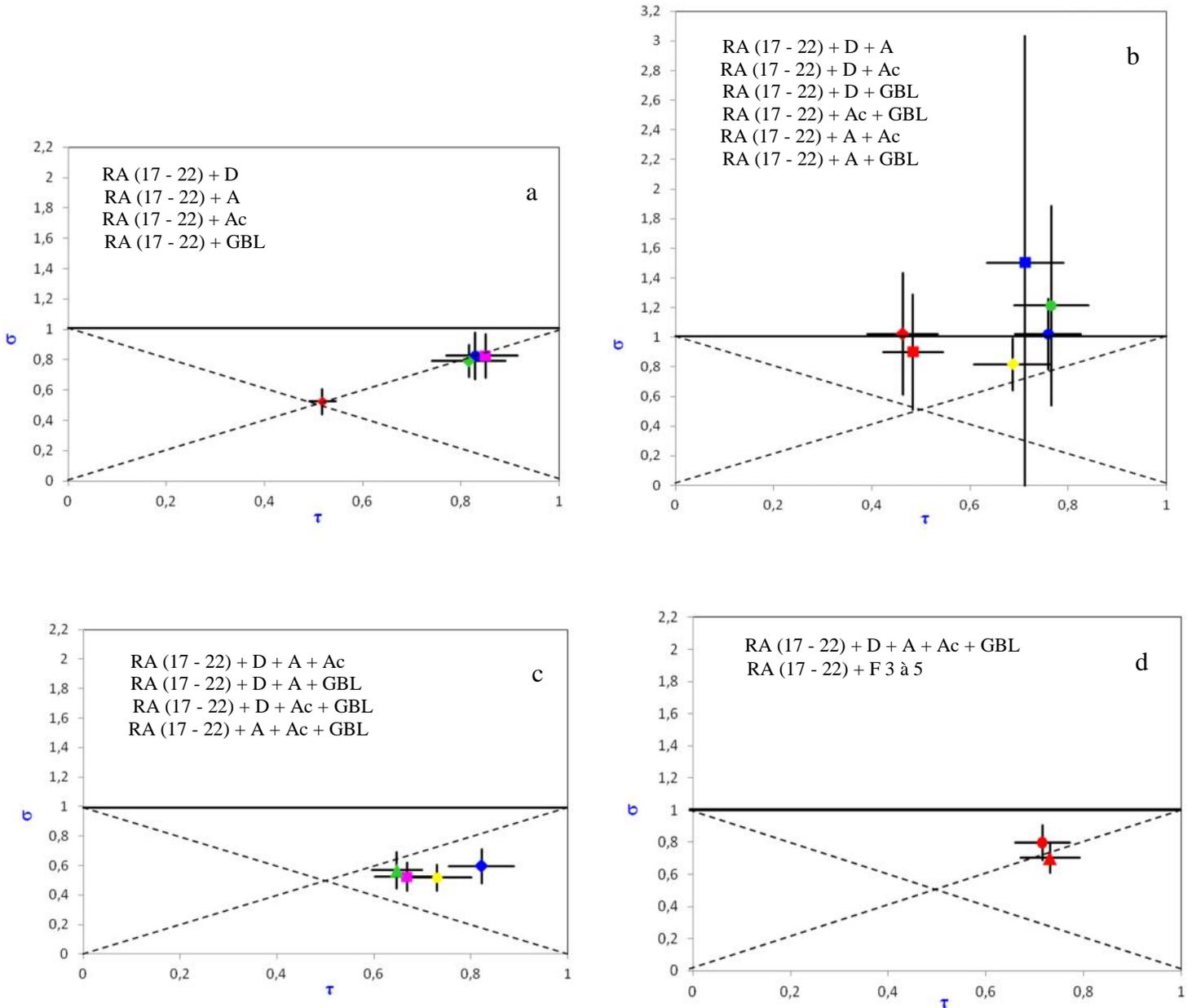


Figure 25 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyle (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité olfactive globale. Représentation graphique $[b = f(\tau)]$ introduite par Patte et Laffort (1979). Les symboles représentent la moyenne de la valeur b et τ . Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% autour des valeurs moyennes de b et τ .

Par ailleurs, la présence simultanée de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone dans la RA (17 à 22) conduit exactement aux mêmes effets d'hypo-addition que les autres mélanges contenant du diacétyl, soulignant leur fort impact en tant que "réducteurs" de l'intensité aromatique globale, et ce, à des concentrations infraliminaires. Les résultats les plus marquants apparaissent quand les quatre composés sont simultanément additionnés à la RA (17 à 22) : la réalisation de reconstitutions aromatiques à partir des constituants des fractions-mêmes aux concentrations identiques à celles apportées par les fractions 3 à 5 conduit aux mêmes modifications olfactives que les fractions 3 à 5 en provoquant une diminution de l'arôme global.

Ces phénomènes de réduction de l'intensité aromatique lors la réalisation d'un mélange d'odorants constituent l'effet le plus souvent rapporté dans la bibliographie (Laing *et al.*, 1984 ; Derby *et al.*, 1985 ; Berglund *et al.*, 1993). Des exemples décrits dans la littérature concernant des composés de faible intensité ayant un impact sur la diminution de l'intensité de l'ensemble corroborent les nôtres. Cain et Drexler (1974) et Berglund et Olsson (1993) ont constaté que le composé ayant la plus faible intensité semblait diminuer l'odeur du composé ayant la plus forte intensité. De même, Moskowitz *et al.* (1977) et plus récemment Thomas-Danguin et Chastrette (2002) ont montré que la présence d'acétate d'heptyle à faible intensité réduisait l'intensité du mélange en exerçant une forte suppression de l'odeur du salicylate d'éthyle. En outre, Cain (1975) avait constaté que la présence de *n*-propanol à faible intensité réduisait celle du butyrate d'amyle d'un facteur proche de 2.

2.2.2 Effets sur l'intensité du caractère de fruits frais

Des effets d'hypo-addition ont été observés pour les quatre mélanges où les composés ont été additionnés séparément à la RA (17 à 22) (**Figure 26a**). L'ajout du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone individuellement dans la RA (17 à 22) a provoqué une diminution significative de l'intensité aromatique, soulignant leur rôle de type masquage sur ce descripteur. Néanmoins, pour le mélange RA (17 à 22) + GBL, en tenant compte des intervalles de confiance pour les valeurs de t et F , nous ne pouvons pas rigoureusement préciser s'il s'agit d'hypo-addition ou d'hyper-addition. Parmi les quatre mélanges étudiés, l'addition de la γ -butyrolactone semble donner les valeurs de t et F les plus élevées,

soulignant l'impact le moins fort de ce composé dans l'atténuation des notes de fruits frais. De plus les points expérimentaux ainsi que les intervalles de confiance pour les mélanges RA (17 à 22) + D et RA (17 à 22) + A sont quasiment superposés, suggérant que l'acétoïne, malgré sa concentration infraliminaire, provoque individuellement, une diminution des notes de fruits frais égale à celle du diacétyl à une concentration supraliminaire.

A l'exception du mélange RA (17 à 22) + A + GBL où le niveau d'interaction ne peut pas être explicité, un niveau d'hypo-addition statistiquement significatif est atteint pour les mélanges après l'addition des composés deux à deux à la RA (17 à 22) (**Figure 26b**). Parmi les six mélanges étudiés, les valeurs de Δ les plus élevées ont été trouvées pour ceux ne contenant pas de diacétyl. Ce qui souligne l'impact de ce composé dans l'atténuation des notes de fruits frais.

L'addition des composés trois à trois à la RA (17 à 22) a conduit à chaque fois à un phénomène d'hypo-addition (**Figure 26c**). Un niveau de compromis a été observé pour tous les mélanges. Néanmoins, le mélange RA (17 à 22) + A + Ac + GBL, ne contenant pas de diacétyl, présente la valeur de Δ la plus élevée, soulignant l'impact fort du diacétyl dans l'atténuation de l'intensité des notes de fruits frais. Par ailleurs, la présence simultanée de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone dans la RA (17 à 22), tous les trois à des concentrations infraliminaires, entraîne une atténuation marquée du caractère fruits frais, montrant que même à ces concentrations, ces composés ont un impact considérable sur l'intensité de ce descripteur.

Une diminution analogue de l'intensité des notes de fruits frais est observée lorsque les fractions 3 à 5 ou le mélange de diacétyl, d'acétoïne, d'acide acétique et de γ -butyrolactone sont additionnés à la RA (17 à 22) (**Figure 26d**). Pour les deux mélanges, RA (17 à 22) + D + A + Ac + GBL et RA (17 à 22 + 3 à 5), le niveau d'interaction est le même et relève de l'hypo-addition. Un niveau de compromis a été observé pour ces deux mélanges. Ces résultats sont en accord avec les résultats de profils sensoriels réalisés dans les mêmes conditions et présentés au paragraphe 1.2 qui mettent en évidence le rôle organoleptique important de ces quatre composés dans l'effet de masquage de l'intensité des fruits frais dûs aux fractions 3 à 5.

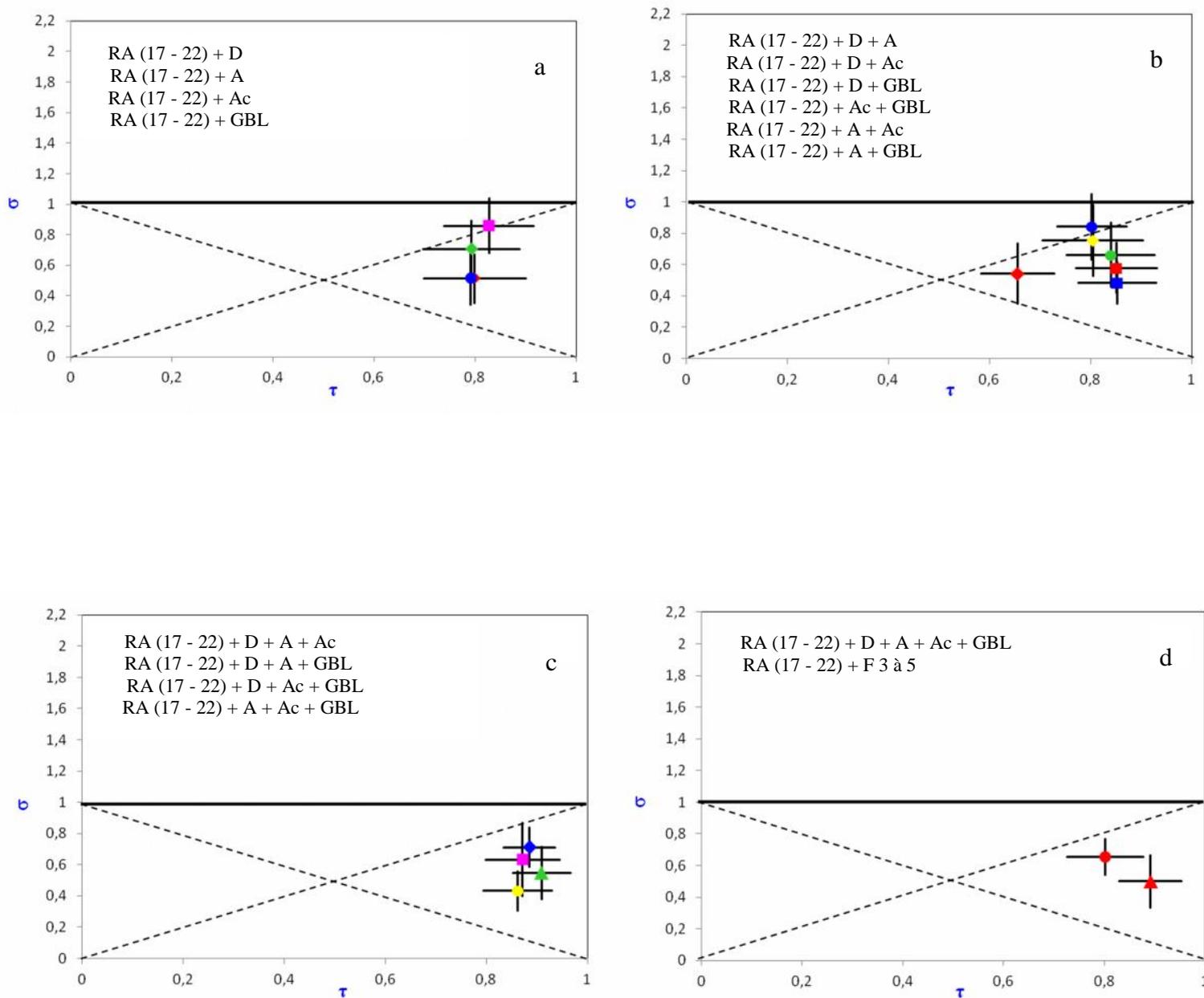


Figure 26 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyle (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité de la note de fruits frais. Représentation graphique $[b = f(\tau)]$ introduite par Patte et Laffort (1979). Les symboles représentent la moyenne de la valeur b et τ . Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% autour des valeurs moyennes de b et τ .

Ces données révèlent des phénomènes particulièrement intéressants. Malgré leurs concentrations infraliminaires, l'acétoïne, la -butyrolactone et l'acide acétique, provoquent individuellement, une diminution de l'intensité de la note de fruits frais. En particulier, l'acétoïne, avait, seule, le même impact que le diacétyle, alors que celui-ci était présent à une teneur supraliminaire. Pour les mélanges où deux composés ont été ajoutés, à l'exception du mélange RA (17 à 22) + A + GBL, le phénomène d'hypo-addition a été le plus fréquemment observé. Par ailleurs, la présence simultanée de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la -butyrolactone dans la RA (17 à 22) conduit exactement aux mêmes effets d'hypo-addition que les autres mélanges contenant trois composés dont le diacétyle, soulignant leur fort impact en tant que "réducteurs" de l'intensité des notes de fruits frais, et ce, à des concentrations infraliminaires. Les résultats les plus marquants apparaissent quand les quatre composés sont simultanément additionnés à la RA (17 à 22) : la réalisation de reconstitutions aromatiques à partir des constituants des fractions-mêmes aux concentrations identiques à celles apportées par les fractions 3 à 5 conduit à des modifications olfactives analogues aux fractions 3 à 5 provoquant une diminution (compromis) de l'intensité des fruits frais.

Concernant l'impact aromatique sur l'intensité de fruits frais, nos résultats ont révélé que les mélanges étudiés présentent pour la plupart un comportement analogue de compromis, cas d'hypo-addition le plus fréquemment observé dans la bibliographie. Après avoir étudié 150 mélanges binaires, Laing *et al.* (1984) ont constaté que l'intensité d'un mélange est inférieure à la somme des intensités des composés hors mélange mais jamais inférieure au composé de plus faible intensité (compromis). De même, Cain et Drexler (1974) ont observé que l'intensité dans des mélanges binaires n'était jamais aussi élevée que la somme des intensités de ces composés, mais plutôt comprise entre les intensités de chaque composante (compromis).

2.2.3 Effets sur l'intensité du caractère de fruits confiturés

L'ajout de l'acétoïne, de la -butyrolactone et de l'acide acétique individuellement dans la RA (17 à 22) semble provoquer, pour les notes de fruits confiturés, une hyper-addition, alors que celui du diacétyle témoigne d'une addition complète. Néanmoins, pour les quatre

mélanges, en tenant compte des intervalles de confiance pour les valeurs de μ et σ , les niveaux d'interaction ne peuvent pas être rigoureusement explicités (**Figure 27a**).

La **Figure 27b**, montre également de très grands intervalles de confiance indiquant que les sujets ne sont pas d'accord sur les effets perceptifs après l'addition des composés deux à deux. A l'exception du mélange RA (17 à 22) + Ac + GBL où un niveau d'hyper-addition statistiquement significatif est atteint, les niveaux d'interaction des autres ne peuvent pas être rigoureusement explicités. Ils semblent néanmoins, relever plus de l'hyper-addition ou de l'addition complète que de l'hypo-addition. L'ajout de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone à des concentrations infraliminaires à la RA (17 à 22), se traduit par une augmentation de l'intensité de la note de fruits confiturés.

Une augmentation analogue de l'intensité de la note de fruits confiturés est observée pour deux mélanges lorsque l'addition des composés est réalisée trois à trois (**Figure 27c**). A l'exception du mélange RA (17 à 22) + A + Ac + GBL et de la RA (17 à 22) + D + Ac + GBL où un niveau d'hyper-addition statistiquement significatif est atteint, les niveaux d'interaction des autres mélanges ne peuvent pas être rigoureusement explicités. La présence simultanée de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone dans la RA (17 à 22), tous les trois à des concentrations infraliminaires, entraîne une augmentation marquée de l'intensité des fruits confiturés, montrant que même à ces concentrations, ces composés ont un impact considérable sur l'intensité de la note de fruits confiturés.

Pour les deux mélanges, RA (17 à 22) + D + A + Ac + GBL et RA (17 à 22) + F 3 à 5, en tenant compte des intervalles de confiance pour les valeurs de μ et σ , les niveaux d'interaction ne peuvent pas être explicités (**Figure 27d**).

De tels intervalles de confiance témoignent du fait que les sujets ne sont pas d'accord sur les effets perceptifs provoqués au sein du mélange. Cependant, malgré le fait que le manque évident de consensus nous empêche de conclure sur l'impact de tous les composés étudiés sur l'intensité du caractère de fruits confiturés, ce travail a néanmoins conduit à des résultats notables. L'effet d'hyper-addition observé pour les mélanges RA (17 à 22) + A + Ac + GBL et RA (17 à 22) + Ac + GBL souligne le rôle de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone en mélange en tant que contributeurs actifs aux notes de fruits confiturés à des concentrations infraliminaires. Malgré les exemples très limités dans la littérature, il a été

observé quelques cas très exceptionnels impliquant des composés présents à de faibles intensités dans des mélanges binaires et conduisant à des phénomènes d'hyper-addition (Atanasova *et al.*, 2004 ; Laing *et al.*, 1984).

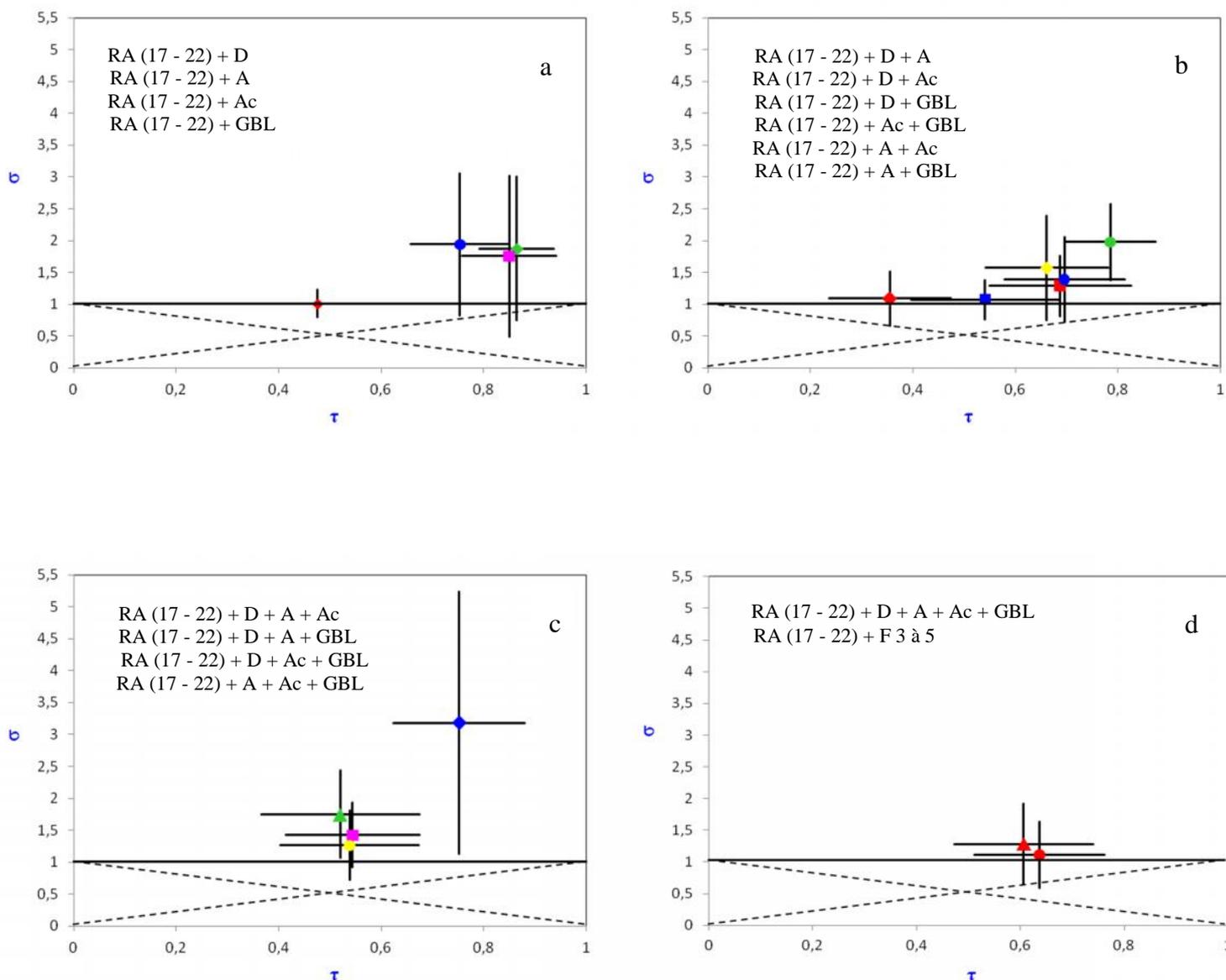


Figure 27 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyle (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité de la note de fruits confiturés. Représentation graphique $[b = f(\tau)]$ introduite par Patte et Laffort (1979). Les symboles représentent la moyenne de la valeur b et τ . Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% autour des valeurs moyennes de b et τ .

Le **Tableau 27** fait la synthèse de l'ensemble de ces résultats. Nous avons observé, en ce qui concerne l'impact aromatique sur l'intensité olfactive globale et les notes de fruits frais, que les mélanges étudiés présentent un comportement généralement analogue et qui relève de l'hypo-addition : le diacétyl, mais aussi l'acétoïne, la γ -butyrolactone et l'acide acétique, malgré leurs concentrations infraliminaires, provoquent une diminution de l'intensité de ces descripteurs. Néanmoins, pour tous les mélanges où deux composés ont été ajoutés, à l'exception du couple acétoïne et acide acétique, on ne constate d'effet significatif sur la diminution de l'arôme global.

Nous ne sommes parvenus à mettre en évidence, pour ce qui est de l'impact aromatique sur les notes de fruits confiturés, qu'un effet significatif témoignant du phénomène d'hyper-addition que dans trois cas, et ce, à cause du manque évident de consensus sur ce descripteur dont témoignent les grands intervalles de confiance observés.

L'addition à la RA (17 à 22) du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique, et de la γ -butyrolactone ainsi que des fractions 3 à 5 provoque une diminution de l'intensité olfactive globale et des notes de fruits frais. Ce dernier résultat souligne leur impact tant que "réducteurs" de l'intensité de la note de fruits frais et valide leur rôle sur le phénomène de masquage de ces notes préalablement constaté.

Ces mêmes additions ne conduisent pas à une modification du caractère de fruits confiturés. Le désaccord entre les juges pour ce descripteur ne nous permet pas de confirmer le rôle de ces fractions et de ces quatre composés sur l'amplification des notes de fruits confiturés, préalablement constatée (**Tableau 24**).

D'une manière générale, on observe que, pour chaque descripteur, lorsqu'un effet significatif est mis en évidence, celui-ci va toujours dans le même sens (notamment phénomènes systématiques d'hypo-additions pour les descripteurs "arôme global" et "fruits frais"). Cela ne signifie pour autant pas que toutes les additions se traduisent rigoureusement de la même manière. En effet tous ces mélanges ne sont comparés qu'avec la reconstitution aromatique fruitée (RA (17 à 22) et pas entre eux puisque l'objectif de cette étude était d'évaluer le niveau d'interaction provoqué par l'ajout des quatre composés à la matrice fruitée.

Tableau 27 : Effet de l'addition à la RA (17 à 22), seul ou en mélange, du diacétyl (D), de l'acétoïne (A), de l'acide acétique (Ac), et de la γ -butyrolactone (GBL) ainsi que des fractions (F) 3 à 5 sur l'intensité olfactive globale, la note de fruits frais et la note de fruits confiturés

	Composante additionné à la RA (17 à 22)	Intensité Globale	Fruits Frais	Fruits Confiturés
1 composé	D			-
	A			-
	Ac			-
	GBL		-	-
2 composés	D + A	-		-
	D + Ac	-		-
	D + GBL	-		-
	Ac + GBL	-		
	A + Ac			-
	A + GBL	-	-	-
3 composés	D + A + Ac			-
	D + A + GBL			-
	D + Ac + GBL			
	A + Ac + GBL			
4 composés ou F 3 à 5	D + A + Ac + GBL			-
	F 3 à 5			-

, augmentation de l'intensité ; , diminution de l'intensité ; -, absence de différence significative.

Néanmoins quand l'ajout de ces quatre composés est perceptible, cela se traduit par un phénomène analogue à celui observé lors de l'ajout des fractions 3 à 5, témoignant de l'effet

probablement direct (présent à des teneurs supraliminaires) du diacétyle et l'effet indirect (présents à des teneurs infraliminaires) de l'acétoïne, l'acide acétique et la γ -butyrolactone.

À la lumière de ces données, les modifications aromatiques liées à la fermentation malolactique peuvent s'expliquer par l'impact significatif du diacétyle (dont les concentrations augmentent au cours de ce processus) sur l'expression de l'arôme fruité. Empiriquement, de nombreux vignerons et de chercheurs ont associé la fermentation malolactique à une diminution de l'arôme fruité du vin (Henick-Kling *et al.*, 1994). Cependant, la réalité scientifique est bien plus controversée. Ainsi, des études menées au cours des trente dernières années sur l'impact de la fermentation malolactique et de l'arôme fruité des vins rouges sont souvent contradictoires. En effet, certains auteurs affirment que la fermentation malolactique peut entraîner une augmentation de cet arôme fruité (Acree *et al.*, 1976 ; Acree *et al.*, 1984 ; Mc Daniel *et al.*, 1987 ; Henick-Kling *et al.*, 1994 ; Keim *et al.* 2002) alors que d'autres indiquent le contraire (Sauvageot et Vivier, 1997 ; Gambaro *et al.*, 2001 ; Du Plessis *et al.*, 2002 ; Boido *et al.*, 2009). Selon Antalick (2010), la fermentation malolactique peut moduler l'arôme fruité des vins rouges de façon qualitative sans nécessairement masquer ou renforcer les notes fruitées.

**VI. IMPACT EN MELANGE COMPLEXE D'ESTERS
ETHYLIQUES ET D'ACETATES SUR L'ARÔME FRUITE
DES VINS ROUGES**

Les études portant sur le caractère fruité des vins rouges menées au cours de la dernière décennie mettent en évidence un certain nombre de composés potentiellement impliqués. Des exemples dans la littérature soulignent l'importance des interactions perceptives sur l'intensité et la qualité de l'arôme fruité du vin rouge. Pineau *et al.* (2009) ont montré que certains composés, bien que présents à des teneurs très largement inférieures à leurs seuils de perception, induisaient une modification du caractère fruité de la matrice considérée.

Plus précisément, ils ont démontré que des différences de teneurs particulièrement faibles, et à des niveaux très inférieurs à leurs seuils de perception, en propanoate d'éthyle, 2-méthylpropanoate d'éthyle et 2-méthylbutanoate d'éthyle dans des reconstitutions aromatiques étaient suffisantes pour induire une modification du caractère fruité de la matrice, qui est alors décrite comme présentant des arômes fruités de type fruits noirs.

Ces auteurs ont fait une observation analogue avec d'autres esters éthyliques : bien que dans des conditions similaires le butanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle, l'octanoate d'éthyle et le 3-hydroxybutanoate d'éthyle ne présentent individuellement pas d'impact direct sur l'arôme des vins rouges, des écarts minimes en leurs teneurs peuvent justifier un caractère fruité de type fruits rouges de ces vins.

Ces exemples soulignent l'importance des interactions perceptives entre des composés présents à des concentrations infraliminaires pour expliquer des différences dans l'intensité et la qualité de l'arôme fruité du vin rouge.

Les 12 esters (esters éthyliques ou acétates) mis en évidence par ces auteurs constituent le socle de ce travail, où leur contribution est étudiée aux concentrations moyennes trouvées dans les vins rouges ($\mu\text{g/L}$) (expérimentation 4).

1. VERIFICATIONS PREALABLES

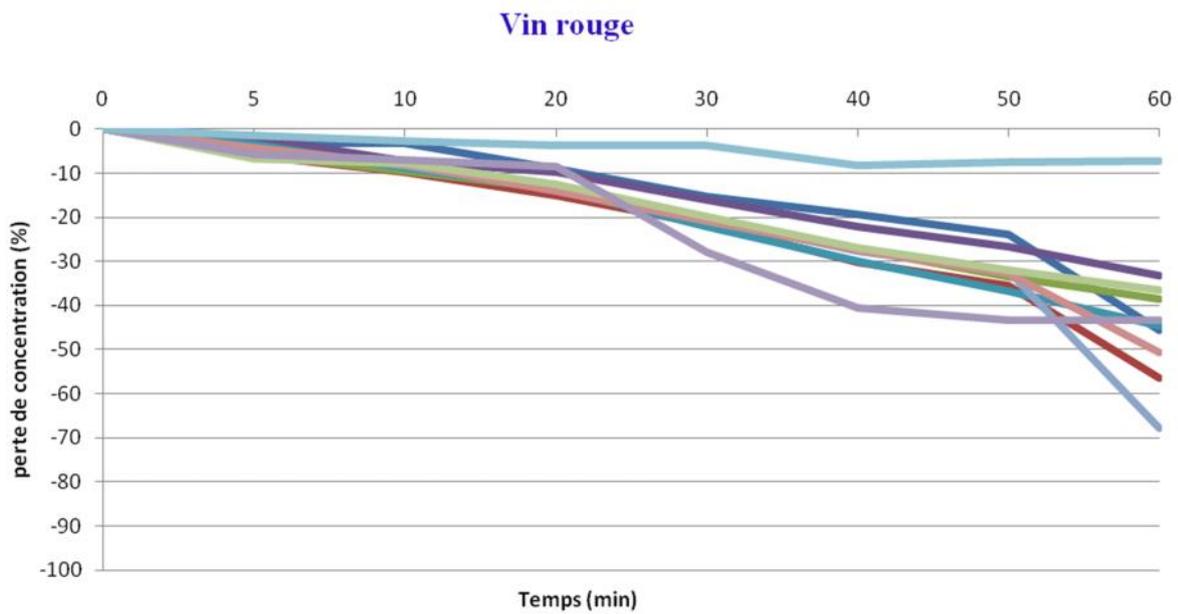
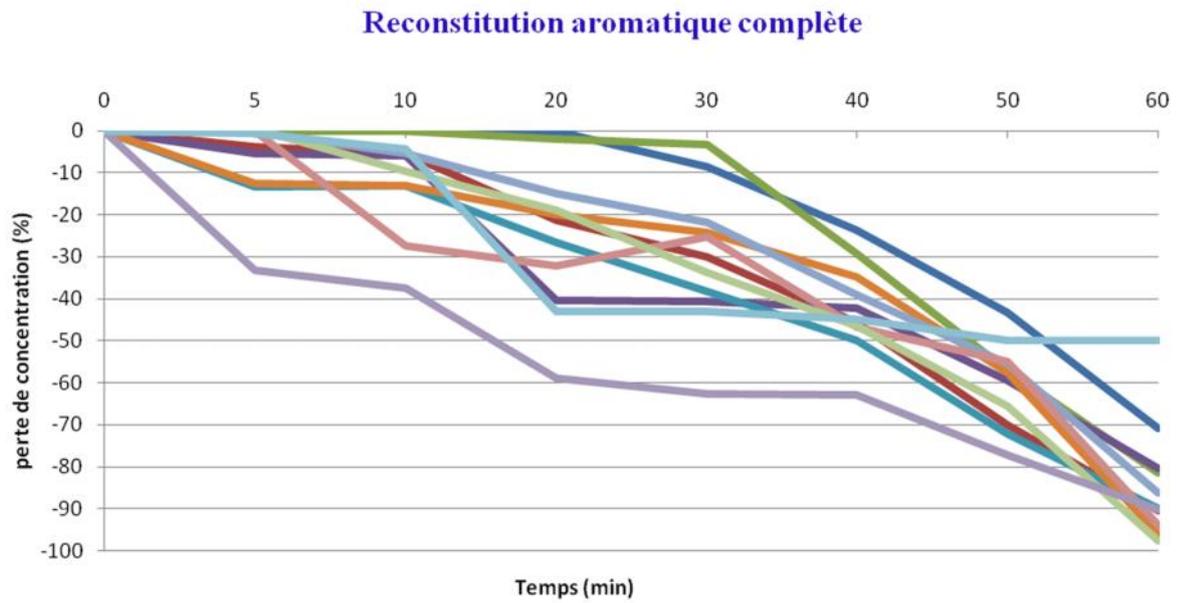
1.1 PURETE DES ESTERS ETHYLIQUES ET ACETATES

Les analyses olfactométriques effectuées préalablement à la réalisation des reconstitutions aromatiques ont permis de s'assurer de la pureté olfactive de chacun des esters et acétates. Les composés présentant des odeurs parasites ont été éliminés et de nouveaux produits commerciaux ont été achetés. Au final, tous les composés utilisés étaient olfactivement purs. Parallèlement, l'analyse avec détection à ionisation de flamme a confirmé une pureté des produits supérieure à 98%.

1.2 EVOLUTION AU COURS DE L'ANALYSE SENSORIELLE DE LA COMPOSITION DES ECHANTILLONS

Avant les premiers essais sensoriels, la cinétique d'évolution des composés odorants en solution hydroalcoolique a été effectuée dans le but de s'assurer de la composition des échantillons effectivement soumis au panel. Pour cela 8 verres contenant l'ensemble des composés étudiés en solution hydroalcoolique ont été préparés dans les mêmes conditions que celles décrites pour le déroulement des analyses sensorielles et agités, également comme dans ce cadre, toutes les 2 minutes.

La cinétique d'évolution de la teneur en esters de la reconstitution aromatique (**Figure 28**) a démontré une stabilité de ceux-ci durant les 10 premières minutes, à l'exception de l'hexanoate d'éthyle et de l'octanoate d'éthyle qui voient, respectivement, leurs concentrations chuter de près de 30 et 40%. Au-delà, la solution peut perdre jusqu'à plus de 50% de certains composés. C'est pourquoi les solutions présentées aux différents membres du panel ont été préparées moins de dix minutes avant la fin de la tâche de chaque sujet. De plus pendant ces intervalles de dix minutes, la stabilité olfactive des échantillons a été vérifiée régulièrement. Toutes les 2-3 minutes, un dégustateur expert s'est assuré de ceci par olfaction directe des échantillons.



- | | | |
|-----------------------------|---|------------------------------|
| — propanoate d'éthyle | — 2-méthylpropanoate d'éthyle | — acétate de 2-méthylpropyle |
| — butanoate d'éthyle | — 2-méthylbutanoate d'éthyle | — acétate de butyle |
| — acétate de 3-méthylbutyle | — hexanoate d'éthyle | — acétate d'hexyle |
| — octanoate d'éthyle | — 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle | |

Figure 28 : Evolution des teneurs en esters en solution au cours du temps dans les conditions d'une séance d'analyse sensorielle.

Au vu de ces résultats, nous ne sommes pas parvenus à nous empêcher d'effectuer les mêmes mesures avec un vin rouge commercial (vin (1)). Après avoir étudié la cinétique d'évolution des esters dans le vin, dans les mêmes conditions que précédemment, nous avons observé une meilleure stabilité des esters durant les 20 premières minutes. Néanmoins, au-delà, une perte importante, pouvant atteindre jusqu'à 70 % pour certains composés, a été constatée (**Figure 28**).

Cette meilleure stabilité des esters dans le vin peut être expliquée par des phénomènes de rétention des composés aromatiques par les constituants non-volatils de cette matrice. Cette stabilité est très variable selon la nature des molécules volatiles et non-volatiles (Saenz-Navajas *et al.*, 2010). La nature des constituants non-volatils de cette matrice, peut, en effet, moduler la composition de l'espace de tête en retenant plus ou moins les composés aromatiques selon les interactions mises en jeu (type force de Van der Waals et liaisons hydrogène), impactant ainsi la perception aromatique des vins (Saenz-Navajas *et al.*, 2010).

L'évolution de l'arôme d'un vin plusieurs minutes après son service est une observation partagée par l'ensemble des dégustateurs. Nos résultats tendent à renforcer l'idée que l'évolution aromatique du vin dans ces conditions relève de la dimension physicochimique : la composition de l'espace de tête n'est pas figée et évolue en fonction de l'évaporation de certains composés et selon l'affinité des molécules odorantes avec la matrice. Ce changement de concentrations des constituants de l'espace de tête est très certainement à l'origine d'une modification de l'odeur. Un travail tel que le notre pourrait être étendu à l'ensemble des constituants potentiellement impliqués dans l'arôme du vin et les résultats obtenus permettraient de contribuer à décrypter ce phénomène d'évolution aromatique des vins au cours de la dégustation, phénomène particulièrement remarquable dans le cas des vins ayant subi plusieurs années de vieillissement en bouteilles.

1.3 COMPOSITION DE L'ESPACE DE TETE DES ECHANTILLONS

Les interactions au niveau présensoriel peuvent relever d'une réaction chimique ou physicochimique simple (Berglund, *et al.*, 1976) ou des variations des propriétés physiques des stimuli (Walker *et al.*, 1999 ; 2003). Afin d'évaluer l'occurrence de telles interactions, les teneurs de l'espace de tête en certains composés ont été déterminées.

Pour chaque substance évaluée, sa teneur dans l'espace de tête d'une solution hydroalcoolique modèle dont elle est l'unique constituant a été comparée à celle de la reconstitution complète (RC) (**Figure 29**).

Un composé a été choisi pour chaque famille chimique considérée : le propanoate d'éthyle, le 2-méthylpropanoate d'éthyle, le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle, l'acétate de butyle et l'acétate de 2-méthylpropyle.

Après avoir appliqué un test statistique bilatéral, non paramétrique (Test de Wilcoxon) pour chaque composé testé, aucune différence significative entre les aires des pics chromatographiques du composé - présent bien sûr dans les deux cas à la même concentration en solution - pris dans l'espace de tête de la solution hydroalcoolique et de la reconstitution aromatique complète n'est apparue (**Figure 29**). Ces mesures ont permis de vérifier qu'il n'existe pas d'interaction présensorielle entre ces composés aromatiques en mélange et indiquent qu'aucun effet différentiel strictement dû à la matrice ne permet d'expliquer les effets que nous pourrions observer.

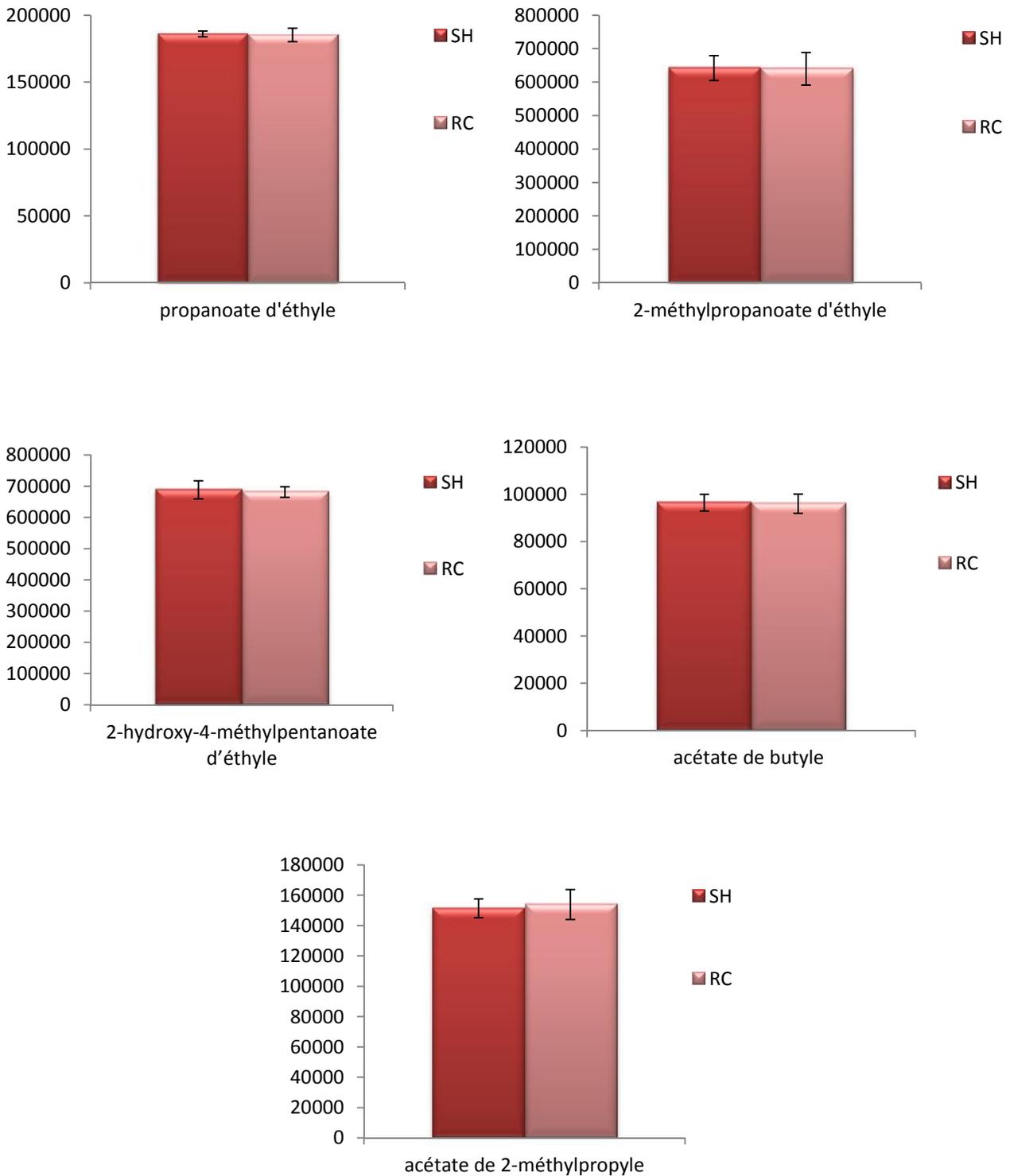


Figure 29 : Effet de la constitution de la matrice sur les teneurs en quelques esters dans l'espace de tête. Les barres d'erreur indiquent l'intervalle de confiance de 95% entre trois répétitions.

2. HIERARCHISATION DE L'IMPACT DES COMPOSES

2.1 PERCEPTION INDIVIDUELLE DES COMPOSES

La réalisation de tests triangulaires a été à la base de ces travaux. Pour chaque composé, l'odeur d'une solution le contenant, a été comparée à celle de la solution hydroalcoolique. Au vu des résultats rassemblés dans le **Tableau 28** (*test 1, 8, 9 et 11*), quatre composés semblent se trouver en concentration infraliminaire. Il s'agit du propanoate d'éthyle (C_3C_2), du 3-hydroxybutanoate d'éthyle ($3OHC_4C_2$), de l'acétate de butyle (C_2C_4) et de l'acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4).

Ces observations sont en accord avec les seuils de perception trouvés en solution hydroalcoolique modèle rapportés dans la littérature, qui sont de 1000 $\mu\text{g/L}$ pour le 3-hydroxybutanoate d'éthyle ($3OHC_4C_2$) (Pineau, 2007) et de 870 $\mu\text{g/L}$ pour l'acétate de 2-méthylpropyle (donnée communiquée par la Faculté d'Œnologie de Bordeaux).

Concernant le propanoate d'éthyle et l'acétate de butyle, leurs seuils de perception en solution hydroalcoolique modèle ne sont pas mentionnés dans la littérature. Leurs seuils rapportés dans du vin désaromatisé, de respectivement 2100 $\mu\text{g/L}$ et 1800 $\mu\text{g/L}$ (Pineau, 2007), laissent penser que nos observations sont cohérentes.

Pour tous les autres composés, les différences observées par le panel sont significatives, avec un intervalle de confiance d'au moins 1%. Ces résultats sont en accord avec les données bibliographiques relatives aux seuils de perception, à l'exception de l'octanoate d'éthyle, dont le seuil en solution hydroalcoolique est de l'ordre de 700 $\mu\text{g/L}$ (donnée communiquée par la Faculté d'Œnologie de Bordeaux), soit près de 3 à 4 fois sa teneur.

D'une manière générale, les seuils de perception peuvent être extrêmement variables en fonction du panel, des conditions d'expérimentation et de la matrice considérée (Plotto *et al.*, 2006 ; Le Berre *et al.*, 2007 ; Pineau *et al.*, 2007 ; Cometto-Muñiz et Abraham, 2008 ; Tempere *et al.*, 2011 ; Tempere *et al.*, 2012). Afin de mieux comprendre leur comportement, les seuils de perception des quatre composés trouvés en concentrations supposées infraliminaires ont été mesurés dans des conditions analogues à celles utilisées préalablement pour évaluer l'impact olfactif de chaque composé.

Tableau 28 : Impact olfactif de l'ajout isolé des différents esters en solution hydroalcoolique

	C ₃ C ₂	C ₄ C ₂	C ₆ C ₂	C ₈ C ₂	2Me C ₃ C ₂	2Me C ₄ C ₂	2OH 4MeC ₅ C ₂	3OH C ₄ C ₂	C ₂ C ₄	C ₂ C ₆	C ₂ iC ₄	C ₂ iC ₅	Différence observée
concentration (µg/L)	150	200	200	200	250	50	400	300	10	2	50	250	
<i>Test 1</i>	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	=
<i>Test 2</i>	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	***
<i>Test 3</i>	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	***
<i>Test 4</i>	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	**
<i>Test 5</i>	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	***
<i>Test 6</i>	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	***
<i>Test 7</i>	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	***
<i>Test 8</i>	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	=
<i>Test 9</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	=
<i>Test 10</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	***
<i>Test 11</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	=
<i>Test 12</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	***

*** Significatif au seuil de 0,1% ; ** Significatif au seuil de 1% ; * Significatif au seuil de 5% ; = absence de différence ; x : présence du composé ; - : absence du composé.

Pour déterminer les seuils de perception pour chaque composé, des courbes psychométriques ont été établies (**Figure 30**). Ces seuils de perception estimés en solution hydroalcoolique, sont rassemblés dans le **Tableau 29**.

La détermination des seuils de perception du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle confirme clairement l'absence d'impact direct de ces quatre composés en solution hydroalcoolique, les teneurs testées étant très largement inférieures à leurs seuils de perception pour les mêmes conditions d'expérimentation (matrice et panel) (**Tableau 29**). Le propanoate d'éthyle, le 3-hydroxybutanoate d'éthyle, l'acétate de butyle et l'acétate de 2-méthylpropyle se présentent donc à des concentrations infraliminaires d'environ, respectivement, 24%, 9%, 13% et 20% de leurs seuils de perception.

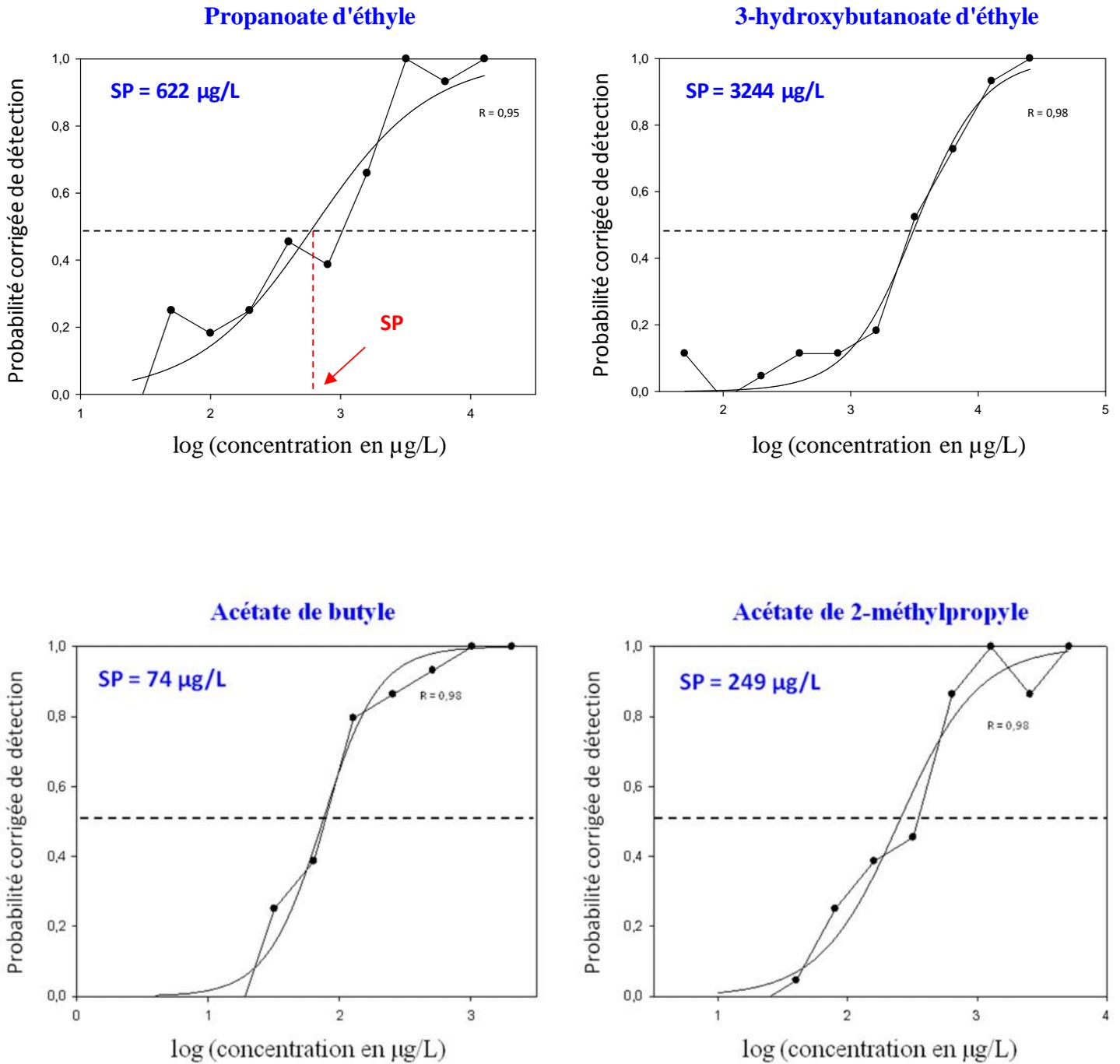


Figure 30 : Probabilités de détection du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle en solution hydroalcoolique. SP, seuil de perception. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

Tableau 29 : Seuils de perception et concentrations testées pour évaluer la perception individuelle des composés

Composé	Concentration testée (µg/L)	Seuil de perception (µg/L)
Propanoate d'éthyle (C ₃ C ₂)	150	622
3-hydroxybutanoate d'éthyle (3OHC ₄ C ₂)	300	3244
Acétate de butyle (C ₂ C ₄)	10	74
Acétate de 2-méthylpropyle (C ₂ iC ₄)	50	249

2.2 EFFET DE L'OMISSION D'UN OU PLUSIEURS COMPOSES

Les résultats des tests d'omission sont présentés dans le **Tableau 30**. Toutes les omissions de familles complètes conduisent à une modification de l'odeur de la reconstitution aromatique statistiquement significative. Concernant l'effet des omissions réalisées composé par composé, seule celle du 2-méthylpropanoate d'éthyle (*test 22*) n'a pas d'impact olfactif. Cette observation illustre l'impact de la complexité aromatique de la matrice sur le seuil de perception. Bien que ce composé soit présent à une teneur supérieure à son seuil de perception en solution hydroalcoolique, les sujets ne perçoivent pas de différence significative, très vraisemblablement car la présence des 11 autres composés élève son seuil de perception. Toutes les autres omissions sont perceptibles, ce qui démontre l'importance de chacun de ces composés dans l'arôme global.

Parmi ces omissions, celles des quatre composés présents à des concentrations infraliminaires s'avèrent concluantes (*tests 18, 25, 26, et 28*). Ces résultats mettent ainsi en évidence l'existence de nouvelles interactions perceptives remarquables. Les plus notables sont celles dues au 3-hydroxybutanoate d'éthyle et à l'acétate de butyle qui jouent un rôle sur l'arôme des reconstitutions à des concentrations d'environ respectivement 9% et 13% de leurs seuils de perception en solution hydroalcoolique.

Les composés caractérisés par des concentrations inférieures à leurs seuils de perception sont généralement considérés comme n'ayant pas - ou tout au moins ayant peu - d'incidence sur la perception sensorielle globale. Cependant, des travaux ont montré que certains d'entre eux, même présents à des teneurs très inférieures à leur seuil de perception olfactive, pouvaient jouer un rôle sur l'arôme global. Outre ceux de Pineau *et al.* (2009) pour lesquels nous avons

débuté ce chapitre, nous pouvons mentionner, par exemple, ceux d'Escudero *et al.* (2007) qui, grâce à des tests d'omission, ont montré que l'addition de sulfure de diméthyle (DMS) à des teneurs infraliminaires pouvait modifier significativement l'arôme global.

Tableau 30 : Impact de l'omission de divers esters sur l'odeur des reconstitutions aromatiques

	C ₃ C ₂	C ₄ C ₂	C ₆ C ₂	C ₈ C ₂	2Me C ₃ C ₂	2Me C ₄ C ₂	2OH 4MeC ₅ C ₂	3OH C ₄ C ₂	C ₂ C ₄	C ₂ C ₆	C ₂ iC ₄	C ₂ iC ₅	Différence observée
concentration (µg/L)	150	200	200	200	250	50	400	300	10	2	50	250	
<i>Test 13</i>	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	***
<i>Test 14</i>	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	*
<i>Test 15</i>	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	**
<i>Test 16</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	**
<i>Test 17</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	**
<i>Test 18</i>	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	***
<i>Test 19</i>	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	***
<i>Test 20</i>	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	**
<i>Test 21</i>	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	*
<i>Test 22</i>	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	=
<i>Test 23</i>	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	***
<i>Test 24</i>	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	***
<i>Test 25</i>	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	***
<i>Test 26</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	***
<i>Test 27</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	**
<i>Test 28</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	**
<i>Test 29</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	***

*** Significatif au seuil de 0,1% ; ** Significatif au seuil de 1% ; * Significatif au seuil de 5% ; = absence de différence ; x : présence du composé ; - : absence du composé ;

Le comportement particulier du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle, a pu être mis évidence grâce à des tests d'omission. Néanmoins, ces tests ne permettent pas de conclure sur la cause de ce comportement, la différence provoquée pouvant relever de la dimension qualitative ou quantitative. Afin de déterminer le type des effets mis en évidence, des seuils de perception particuliers ainsi que des profils sensoriels ont été établis.

3. PROPRIETES OLFACTIVES DES COMPOSES PRESENTS A DES TENEURS INFRALIMINAIRES

3.1 EFFET QUANTITATIF

Le seuil de perception "particulier" de chacune des reconstitutions aromatiques a été mesuré dans deux matrices : une solution hydroalcoolique et la même solution additionnée du composé pour lequel une interaction perceptive remarquable a été préalablement mise en évidence. Quatre seuils de perception ont donc été mesurés : ceux de la RC à l'exception du propanoate d'éthyle, de la RC à l'exception du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de la RC à l'exception de l'acétate de butyle et de la RC à l'exception de l'acétate de 2-méthylpropyle.

Afin de déterminer les seuils de perception de chaque reconstitution aromatique, des courbes psychométriques ont été établies et les seuils obtenus sont reportés dans le **Figure 31**.

La présence de chacun de ces composés entraîne une nette diminution du seuil de perception de la reconstitution aromatique traduisant une contribution quantitative de ce composé à l'intensité aromatique globale. En fonction des esters testés, le rapport entre les seuils de perception du pool fruité en solution hydroalcoolique et dans la même solution additionnée du composé d'intérêt, est au minimum de 1,84 pour la RC à l'exception de l'acétate de 2-méthylpropyle ($p > 0,05$) et dépasse, pour les autres reconstitutions le pas de dilution ($p < 0,01$).

Les seuils de perception de ces quatre composés en solution hydroalcoolique ainsi que leurs concentrations utilisées dans le cadre de notre étude sont très différents. Ainsi, par exemple, présent à la teneur particulièrement faible de 10 μ g/L (soit 13% de son seuil de perception), l'acétate de butyle a provoqué une diminution du seuil de perception de la reconstitution d'un facteur supérieur à 3. Ces résultats confirment clairement que le propanoate d'éthyle, le 3-hydroxybutanoate d'éthyle, l'acétate de 2-méthylpropyle et, bien sûr, l'acétate de butyle, présents à des concentrations infraliminaires jouent un rôle notoire d'exhausteur de l'arôme fruité, via des interactions perceptives remarquables.

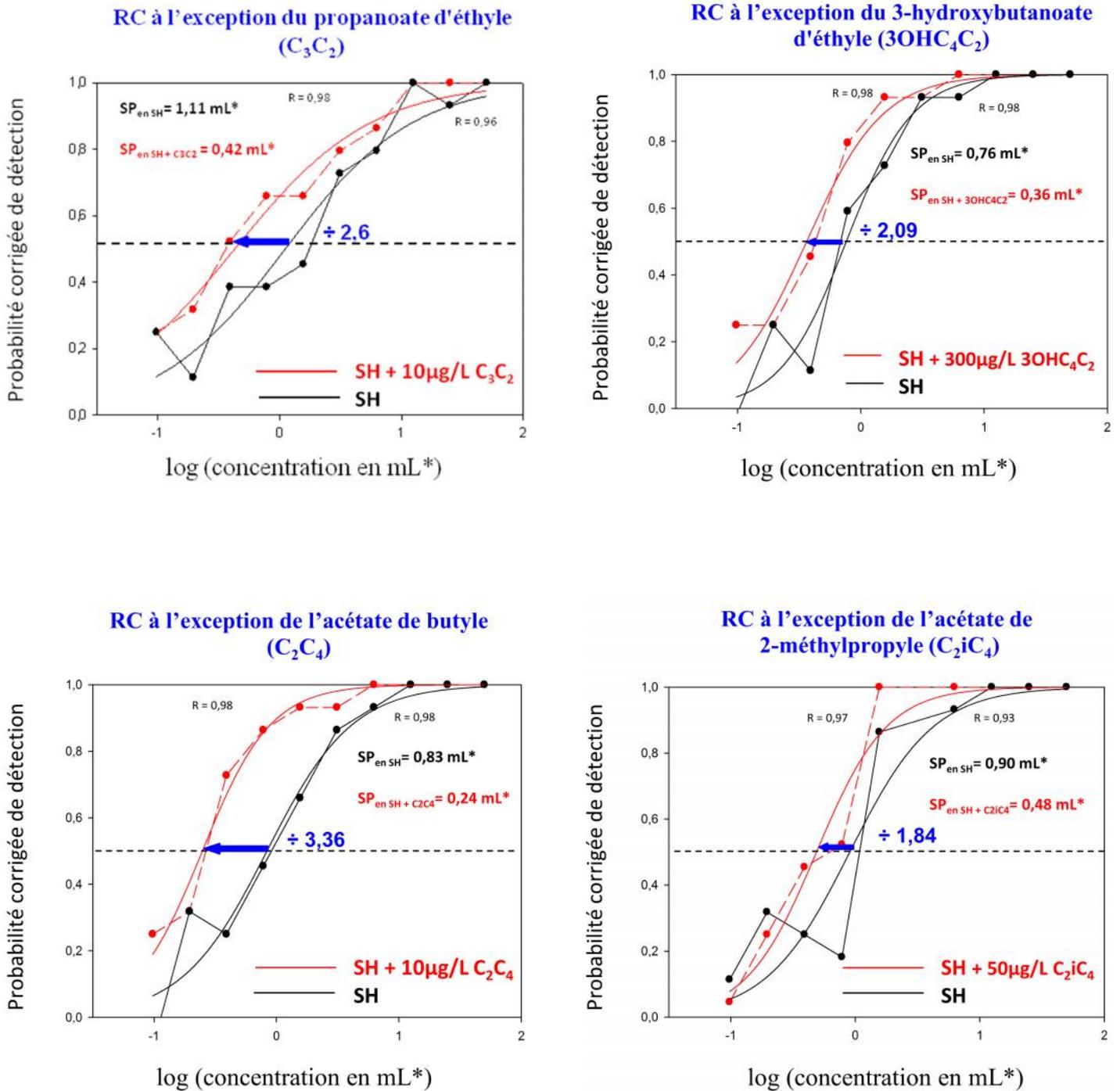


Figure 31 : Effet de l'addition du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle sur la probabilité de détection des reconstitutions aromatiques. * exprimée en mL de RC diluée dans 50mL de matrice. SH, solution hydroalcoolique. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

Des phénomènes relativement analogues ont été rapportés dans le vin. Dans les années 70 Ribéreau-Gayon *et al.* (1975), ont démontré des effets additifs dans des mélanges complexes de composés terpéniques. Ces auteurs ont montré que le mélange constitué de 8 composés terpéniques présentait un seuil de perception inférieur au seuil de perception le plus faible des composés terpéniques du mélange. Des effets additifs impliquant des composés à des teneurs inférieures à leurs seuils de perception ont également été démontrés dans les vins botrytisés pour trois thiols volatils (Sarrazin *et al.*, 2007).

En ce qui concerne le comportement des mélanges entre des composés à des concentrations infraliminaires, la bibliographie relate des résultats conduisant vers l'additivité ou l'hyper-additivité. Par exemple, l'additivité a été montrée par Guadagni *et al.* (1963) dans tous les mélanges testés, qu'il s'agisse de mélanges binaires ou de mélanges constitués jusqu'à 10 composés.

Compte tenu de ces données bibliographiques, une question se pose pour tenter d'expliquer les nouvelles interactions mises en évidence. La contribution quantitative de ces composés à la diminution du seuil de perception du pool fruité correspond-elle à un simple phénomène d'additivité ou bien à un effet d'hyper-addition?

Afin d'aborder cette question, l'impact de la présence de chacun des composés au comportement remarquable sur l'odeur du mélange a été évalué et les données obtenues ont été comparées aux données théoriques émanant du modèle de Feller. Ce modèle peut effectivement s'appliquer ici puisque la reconstitution aromatique fruitée à l'exception du composé d'intérêt constitue un principe odorant fruité et que le mélange de celui-ci avec le composé d'intérêt correspond à un mélange binaire.

Le principe de cette approche a déjà été présenté et illustré explicitement au paragraphe 2.2.1 du chapitre IV. Un exemple de calcul de la probabilité de détection estimée par le modèle de Feller est présenté dans le **Tableau 31**.

Grâce à la courbe psychométrique obtenue pour la mesure du seuil de perception de chacun des composés d'intérêt (**Figure 30**), la probabilité de détection de ces composés (hors du mélange) à la concentration étudiée a été calculée. Pour une concentration en propanoate d'éthyle, 3-hydroxybutanoate d'éthyle, acétate de butyle et acétate de 2-méthylpropyle respectivement de 150, 300, 10 et 50 µg/L, la probabilité de détection était, respectivement,

de 0,2 ; 0,019 ; 0,016 et 0,092, signifiant que 20%, 1,9%, 1,6% et 9,2% des sujets du panel sont capables de détecter la présence de ces composés.

Tableau 31 : Exemple de calcul de la probabilité de détection de la RC à l'exception du propanoate d'éthyle (C_3C_2) en solution hydroalcoolique additionnée du C_3C_2 (150 μ g/L) dans le verre "positif" : valeurs obtenues expérimentalement et estimées selon le modèle de Feller

$p(C_3C_2)$ - hors mélange	$p(RC \text{ à l'exception du } C_3C_2)$ - hors mélange	$p(RC \text{ à l'exception du } C_3C_2 + C_3C_2)$ expérimentale	$p(RC)$ estimée par le modèle de Feller
calculée et <u>fixe</u>	$= ((3 * \text{proportion de réponses correctes}) - 1) / 2$		$= p(RC \text{ à l'exception du } C_3C_2) + p(C_3C_2) - p(RC \text{ à l'exception du } C_3C_2) p(C_3C_2)$
0,20	0,25	0,39	0,40
0,20	0,11	0,25	0,29
0,20	0,39	0,73	0,51
0,20	0,39	0,66	0,51
0,20	0,45	0,86	0,56
0,20	0,73	0,93	0,78
0,20	0,80	1,00	0,84
0,20	1,00	1,00	1,00
0,20	0,93	1,00	0,95
0,20	1,00	1,00	1,00

Les courbes psychométriques de la probabilité de détection estimée par le modèle de Feller et expérimentale ont été établies puis comparées. La probabilité de détection expérimentale de la reconstitution élaborée avec tous les composés à l'exception du 3-hydroxybutanoate d'éthyle et celle élaborée avec tous les composés à l'exception de l'acétate de 2-méthylpropyle, est supérieure à celle estimée par le modèle de Feller (**Figure 32**) révélant un effet d'hyper-addition après l'addition de chacun de ces composés dans le pool fruité ($p < 0,001$). Il n'a pas

été observé de différence significative ($p > 0,05$) entre les probabilités de détection expérimentales des reconstitutions élaborées avec tous les composés à l'exception, soit du propanoate d'éthyle, soit de l'acétate de butyle et celles estimées par le modèle de Feller (**Figure 32**), ce qui traduit un effet d'addition complète pour chacun des composés dans le pool fruité.

En fonction des esters testés, le rapport entre les seuils de perception estimés par le modèle de Feller et les seuils expérimentaux est au minimum de 1,34 pour l'acétate de butyle et au maximum de 11,80 pour l'acétate de 2-méthylpropyle (**Figure 32**). Malgré la concentration infraliminaire de l'acétate de 2-méthylpropyle (quand seuls 9,2% des sujets du panel sont capables de détecter sa présence) son addition dans la matrice conduit à des résultats notables dès le premier point où plus de 50% du panel ont détecté une différence, indiquant sa forte contribution.

Ces résultats confirment clairement que le 3-hydroxybutanoate d'éthyle et notamment l'acétate de 2-méthylpropyle présents à des concentrations infraliminaires jouent un rôle synergique sur l'arôme fruité, via des interactions perceptives remarquables alors que le propanoate d'éthyle et l'acétate de butyle présents à des concentrations infraliminaires révélèrent un effet d'addition complète.

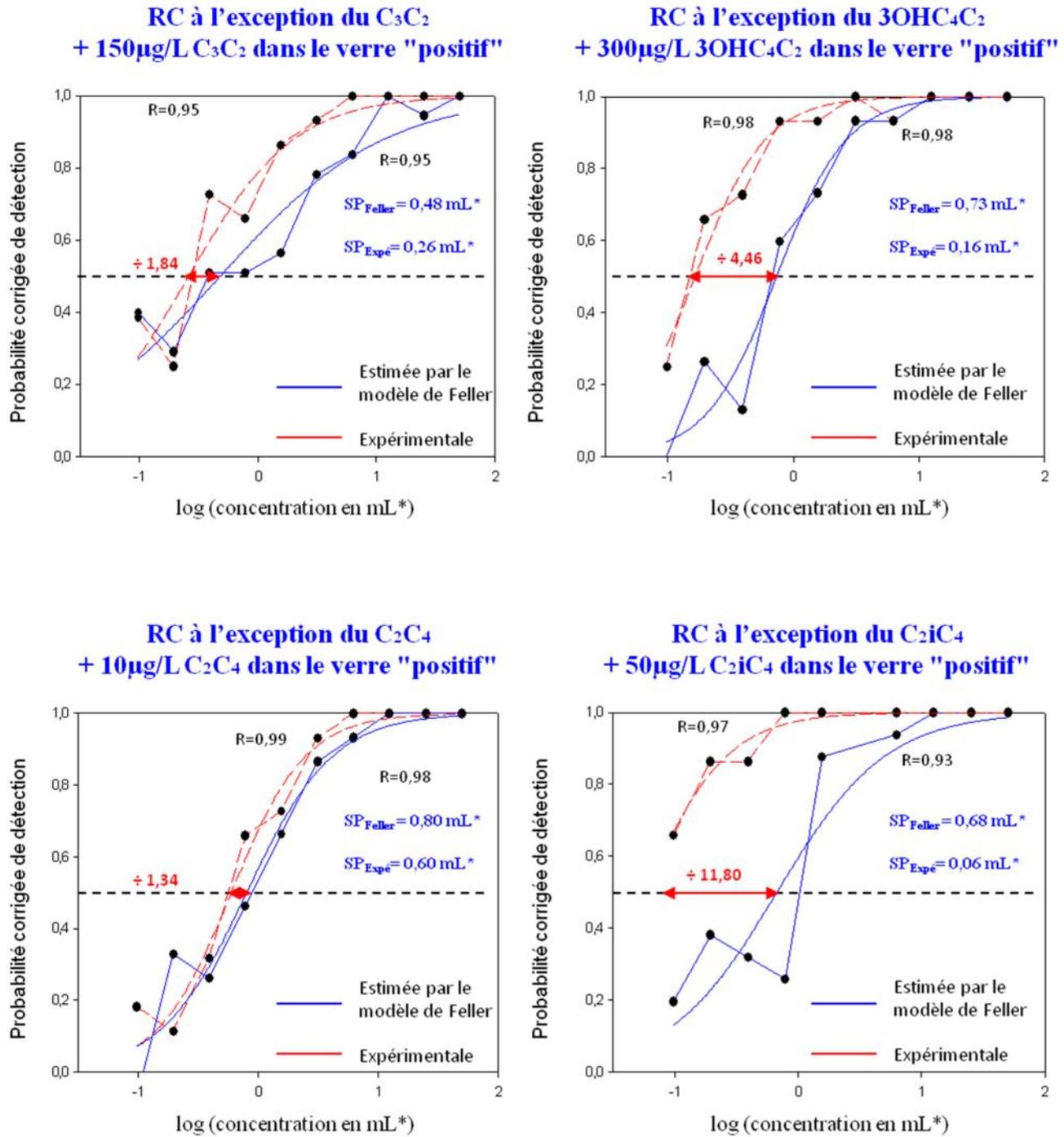


Figure 32 : Probabilités de détection des reconstitutions aromatiques déterminées expérimentalement et calculées selon le modèle de Feller.* exprimée en mL de RC diluée dans 50mL de matrice. SP_{Feller}, seuil de perception estimé avec l'application du modèle de Feller ; SP_{Expé}, seuil de perception expérimental. Les courbes représentent les taux de réponses en fonction de la concentration et sont tracées selon une fonction sigmoïde.

3.2 EFFET QUALITATIF

Les résultats des profils olfactifs des différents tests d'omission sont présentés **Figure 33**. Pour la totalité des profils sensoriels réalisés, aucun effet poste n'a été mis en évidence.

Concernant **l'omission du propanoate d'éthyle (C_3C_2)**, des différences significatives ont été mises en évidence pour tous les descripteurs. L'arôme global ainsi que les intensités des descripteurs fruits rouges et fruits confiturés sont significativement plus élevés en absence du propanoate d'éthyle, alors que celle relative aux caractères fruits noirs et fruits frais sont significativement plus faibles.

Concernant **l'omission du 3-hydroxybutanoate d'éthyle ($3OHC_4C_2$)**, les analyses statistiques des profils sensoriels ne montrent pas de différence significative entre la reconstitution aromatique partielle et la reconstitution complète.

Concernant **l'omission de l'acétate de butyle (C_2C_4)**, des différences significatives ont été mises en évidence pour l'arôme global et l'intensité des notes fruits rouges et fruits noirs. L'arôme global et l'intensité des notes fruits rouges semblent significativement plus élevées dans les reconstitutions aromatiques en absence du composé, tandis que le caractère fruits noirs est, en revanche significativement plus faible.

Concernant **l'omission de l'acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4)**, des différences significatives ont été relevées pour tous les descripteurs. Comme pour le propanoate d'éthyle, l'arôme global et l'intensité des notes fruits rouges et fruits confiturés sont significativement plus élevés dans les reconstitutions aromatiques en absence de cet acétate. Les descripteurs fruits noirs et fruits frais sont, en revanche, significativement plus faibles. Tout comme le propanoate d'éthyle, le l'acétate de 2-méthylpropyle contribue donc de façon significative à l'arôme fruité global en gommant, l'arôme global, le caractère fruits rouges et fruits confiturés. De plus, il contribue à renforcer la note fruit noir et fruits frais.

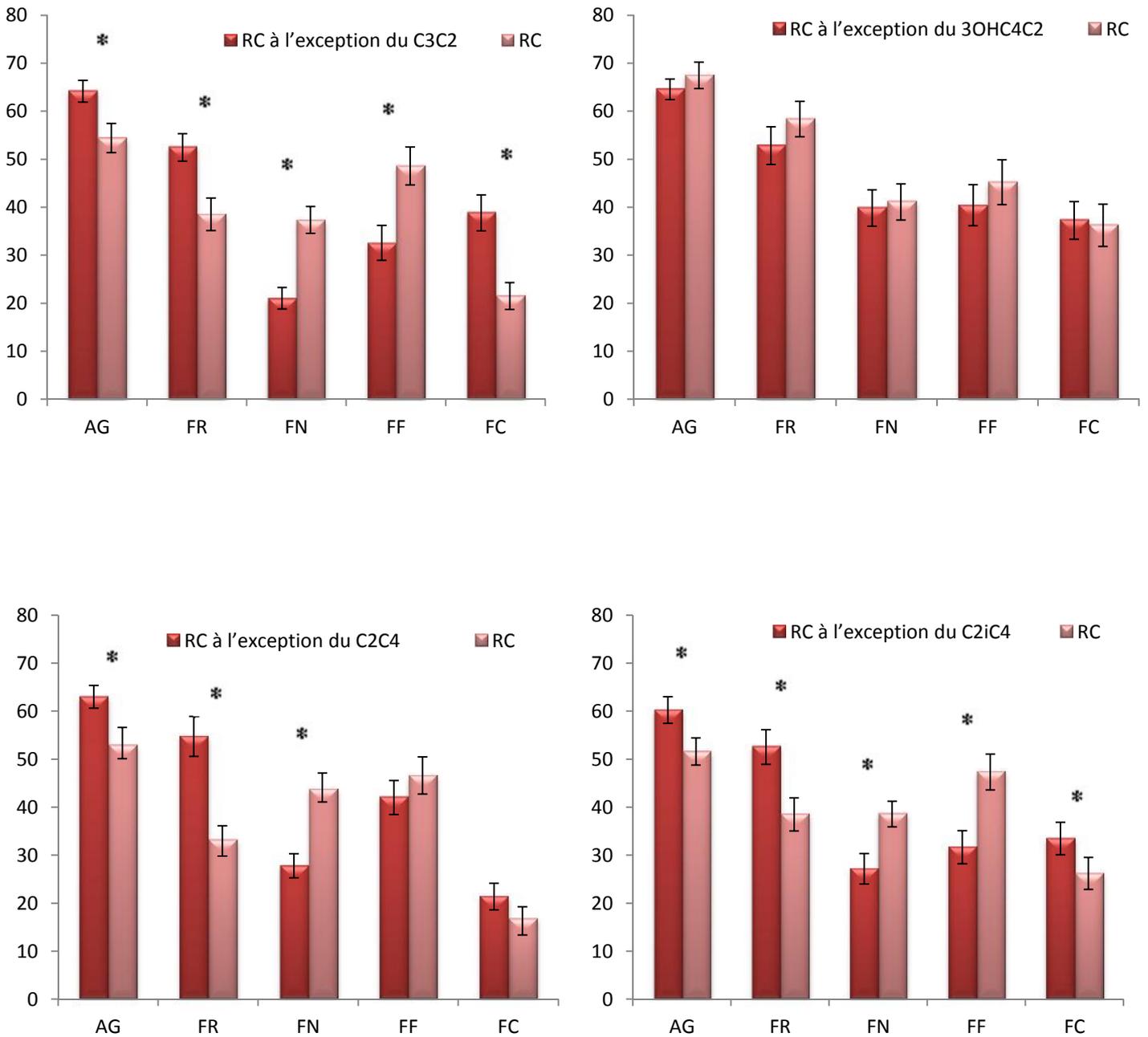


Figure 33 : Effet de l'omission du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle sur l'odeur des reconstitutions aromatiques. * $p < 0,05$; AG, arôme global ; FR, fruits rouges ; FN, fruits noirs ; FF, fruits frais ; FC, fruits confiturés. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard.

Tableau 32 : Synthèse des effets de l'omission de quelques esters sur l'odeur des reconstitutions aromatiques

		OMISSIONS			
		C ₃ C ₂	3OHC ₄ C ₂	C ₂ C ₄	C ₂ iC ₄
DESCRIPTEURS	AG		-		
	FR		-		
	FN		-		
	FF		-	-	
	FC		-	-	
TENEURS (µg/L)		150	300	10	50

, augmentation de l'intensité ; , diminution de l'intensité ; -, absence de différence significative.

Le **Tableau 32** fait la synthèse de l'ensemble de ces résultats. Au final, trois des composés étudiés à travers ces profils présentent une contribution à l'arôme fruité global. Cette contribution est, de plus, qualitativement analogue : l'omission de chacun de ces composés entraîne une augmentation de l'intensité de l'arôme global, de la note fruits rouges et de la note fruits confiturés et une diminution des caractères fruits noirs et fruits frais. Concernant les caractères fruits noirs et fruits frais, ces comportements vont dans le même sens que celui du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle explicité au chapitre IV. Finalement, ces composés, de structure chimique relativement proche, semblent participer d'une manière analogue à l'arôme fruité global des vins rouges en jouant le rôle d'exhausteur des arômes de fruits noirs et de fruits frais.

Ainsi, en plus des esters, il est établi que d'autres composés aromatiques peuvent également participer à la qualité fruitée des vins rouges à des concentrations infraliminaires, comme le diméthylsulfure (DMS). Des tests sensoriels effectués pour expliquer la note fruitée par Escudero *et al.* (2007) montrent que bien que 10 µg/L de ce composé n'ont pas pu être perçues dans du vin désaromatisé, sa présence dans des mélanges plus complexes conduit à des notes "sweet-fruity" ou d'olives vertes. Selon Anocibar-Beloqui *et al.* (1996) dans certains vins jeunes une addition de DMS portant sa teneur au dessus du seuil de perception confère

des notes cassis et framboise. Ces observations ont été vérifiées dans des vins de Grenache et de Syrah par Segurel *et al.* (2004).

CONCLUSION GENERALE

Notre travail s'est attaché à approcher les interactions perceptives susceptibles d'intervenir dans l'expression des notes fruitées typiques des vins rouges.

Pour cela nous avons dans un premier temps développé une méthode nous permettant d'élaborer des reconstitutions aromatiques à partir des 25 fractions issues d'un extrait organique de l'arôme du vin et évalué la représentativité de ces reconstitutions en solution hydroalcoolique. La méthode de fractionnement a permis une très bonne isolation des fractions fruitées (fractions 17 à 22) qui sont composées d'esters éthyliques et d'acétates. L'analyse sensorielle, et en particulier la réalisation de tests triangulaires, nous a permis de montrer qu'il est possible d'obtenir des reconstitutions aromatiques présentant les mêmes caractères fruités (fruits rouges et noirs, frais et confiturés) que les vins originaux mais pas de reproduire rigoureusement dans son intégralité l'arôme du vin.

Nous avons pu mettre en évidence quelques interactions perceptives particulières comme des effets de contributions marquées ou de masquage pour certains descripteurs. Lorsque la fraction 17 est présente dans la reconstitution aromatique fruitée, les intensités moyennes des notes de fruits noirs et de fruits frais sont significativement plus élevées. Ces résultats indiquent que la fraction 17, de faible caractère fruité, peut contribuer aux notes de fruits noirs et de fruits frais de l'ensemble. Les résultats obtenus lors de la supplémentation de la reconstitution aromatique fruitée par les fractions 3 à 5, qui conduit à une diminution des notes de fruits frais et à une augmentation de celles de fruits confiturés, indiquent que ces fractions sans caractère fruité particulièrement clair, peuvent influencer les notes de fruits frais et confiturés de l'ensemble. La composition des fractions à l'origine de ces interactions perceptives particulières a été ensuite établie.

La deuxième partie de notre étude s'est focalisée à la caractérisation des composés présents dans la fraction 17. La chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse relève l'élution d'un ester éthylique chiral, le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle à l'odeur évoquant la mûre. Ajouté à une concentration identique à celle apportée par la fraction 17, ce composé conduit aux mêmes modifications olfactives en ce qui concerne les notes de fruits noirs et de fruits frais.

Ses teneurs et son impact organoleptique ont été plus largement étudié. Dans des vins secs du même âge, les teneurs en 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle sont généralement plus

élevées dans les vins rouges que dans les vins blancs et d'une valeur moyenne de 400 µg/L. Les vins blancs présentent, en général, uniquement la forme R, alors que les vins rouges présentent les deux énantiomères avec des ratios qui varient en fonction du vieillissement, les plus grandes concentrations de l'isomère S ayant été trouvées dans des échantillons anciens.

Le seuil de perception du R-2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle en solution hydroalcoolique est de 126 µg/L, soit presque le double que celui de l'énantiomère S, qui est de 56 µg/L, attestant clairement que ces seuils sont fortement dépendants de la stéréochimie de l'odorant. Les données ont révélé que 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle était généralement présent à des niveaux légèrement supérieurs à ses seuils de perception établis en solution hydroalcoolique ou dans du vin rouge désaromatisé. Par contre, dans une matrice olfactivement plus complexe, comme la reconstitution aromatique à partir des fractions fruitées, son seuil de perception est plus élevé mais encore assez proche des teneurs trouvées dans les vins. Aussi, il semble que le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ne joue pas un rôle direct digne de celui d'un composé qualifié de "clé" dans l'arôme des vins rouges. En revanche, nos résultats soulignent la contribution indirecte de cet ester. En effet, en provoquant la diminution du "seuil de perception" du pool fruité des vins rouges et l'augmentation de l'intensité des notes de fruits noirs et de fruits frais, ce composé agit comme un exhausteur naturel de ces notes fruitées.

La troisième partie de notre étude s'est focalisée sur l'étude des modifications olfactives dues aux fractions 3 à 5 et a débuté par la caractérisation de leurs constituants. La chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse relève la présence largement prédominante du diacétyl, de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la -butyrolactone. Des reconstitutions aromatiques réalisées à partir de ces composés, aux concentrations identiques à celles apportées par les fractions 3 à 5 ont montré qu'ils conduisaient aux mêmes modifications olfactives de l'expression fruitée que les fractions elles-mêmes en masquant les notes de fruits frais et en intensifiant celles de fruits confiturés.

Dans le but de hiérarchiser l'impact de ces composés, diverses reconstitutions aromatiques visant à l'évaluer, seuls ou en mélange, ont été élaborées et les résultats de l'analyse sensorielle ont été analysés grâce à la représentation graphique [$I = f(C)$] introduite par Patte et Laffort (1979). En ce qui concerne l'intensité aromatique globale ainsi que les notes de fruits frais, un effet d'hypo-addition a été révélé pour la plupart des mélanges étudiés, ce qui

démontre l'impact de chacun de ces composés sur l'intensité de ces descripteurs. Ce qui pouvait être prévisible pour le diacétyl, présent à des teneurs supraliminaires, l'était beaucoup moins pour l'acétoïne, l'acide acétique, et la γ -butyrolactone dont nous avons démontré l'impact sensoriel, seuls ou en mélanges, à des concentrations représentant respectivement environ 2%, 12% et 40% de leurs seuils de perception.

La quatrième partie de notre étude s'est focalisée sur l'étude du comportement en mélange complexe de 12 esters fruités constituants principaux du pool fruité des vins rouges. Pour cela bon nombre de tests d'omission ont été réalisés afin d'évaluer le comportement de ces composés aux teneurs moyennes trouvées dans les vins rouges.

A une exception près, les omissions de chaque composé se sont avérées significativement perceptibles montrant ainsi toute la complexité de la justification de l'arôme d'un mélange aussi complexe. Quatre composés présents à des teneurs infraliminaires et dont les omissions ont été clairement perçues jouent un rôle tout particulier, il s'agit du propanoate d'éthyle, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de butyle, et de l'acétate de 2-méthylpropyle dont les omissions se sont avérées clairement perceptibles par le panel à des teneurs éloignées (pouvant être de l'ordre de 9 à 24%) de leurs seuils de perception. Leur comportement a été quantifié de manière plus précise et il s'avère que deux d'entre eux conduisent à une baisse notable du seuil de perception du pool aromatique constitué de l'ensemble des 11 autres substances. Comparé au modèle d'additivité proposé par Feller (1968), les comportements du 3-hydroxybutanoate d'éthyle et de l'acétate de 2-méthylpropyle s'avèrent analogues et témoignent d'un phénomène d'hyper-addition, l'impact synergique le plus marqué revenant à l'acétate de 2-méthylpropyle. L'addition du propanoate d'éthyle et de l'acétate de butyle dans le pool fruité relèvent, quant à elles, de l'addition complète. L'établissement de profils sensoriels a, enfin, permis d'évaluer l'impact qualitatif de ces composés : hormis pour le 3-hydroxybutanoate d'éthyle, l'omission de chacun de ces composés entraîne une augmentation de l'intensité globale, de la note fruits rouges et une diminution des caractères fruits noirs et fruits frais. Il s'avère donc que ces composés, de structure chimique proche, participent tant quantitativement que qualitativement, à la modulation de l'arôme fruité des vins rouges en jouant le rôle d'exhausteur des arômes de fruits noirs et de fruits frais, et ce tout comme le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle.

D'une manière plus générale, nos travaux soulignent la difficulté d'appréhender précisément le comportement aromatique d'un mélange complexe et indiquent l'importance de la réalisation de reconstitutions aromatiques pour accéder à la compréhension de tels comportements. Ils contribuent également à la remise en cause de concepts bien établis tels que notamment celui de seuil de perception.

Afin de mieux comprendre l'arôme du vin dans sa globalité l'approche initiée ici pourrait être développée. Il semble tout d'abord nécessaire de poursuivre les travaux concernant les modalités des reconstitutions aromatiques et d'investir le domaine du vin désaromatisé, dont la composition, en termes de constituants non volatils en particulier, est bien plus proche de celle d'un vin qu'une simple solution hydroalcoolique. On peut imaginer qu'une telle matrice permettrait de tenir compte des interactions potentielles entre constituants non volatils et volatils alors que nous nous sommes, ici, de fait, limités aux interactions entre ces derniers.

Par ailleurs, il nous reste également à nous pencher sur bon nombre d'autres reconstitutions aromatiques. En effet nous avons, dans le cadre de ce travail, éludé, en particulier, les fractions 6 à 16 ne présentant pas de caractère fruité, dans la mesure où leur impact, seules ou en mélange, sur la reconstitution aromatique fruitée était, en fonction des vins testés, assez aléatoire, nous laissant à penser que leur composition diffère notablement selon les vins. Il semble ainsi judicieux d'explorer ces interactions dans les cas où elles paraissent les plus marquées.

Nous avons montré que l'impact sensoriel indirect du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle s'avérait du même ordre que celui d'autres composés plus étudiés tels que le propanoate d'éthyle, l'acétate de butyle, l'acétate de 2-méthylpropyle et, dans une moindre mesure, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle. Ceci suggère l'existence d'une véritable famille de composés d'impact, réunis par leurs propriétés sensorielles similaires mais aussi par leurs structures chimiques relativement voisines (esters de petite taille éventuellement ramifiés et / ou hydroxylés).

Au vu de leur rôle dans l'intensification du caractère fruité des vins, il semble que la maîtrise de celui-ci passe par une connaissance de l'ensemble des voies de formation de ces esters. Si l'on se penche en particulier sur le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle, l'évolution lors

des opérations fermentaires et du vieillissement de ses teneurs et de son profil énantiomérique laissent penser que ses origines sont multiples ce qui nécessitera des investigations diverses.

Parmi les interactions que nous avons mis en évidence, nous nous sommes particulièrement focalisés sur celles mettant en jeu des composés (qu'il s'agisse d'esters, de l'acétoïne, de la -butyrolactone ou encore de l'acide acétique) qui se trouvaient à des teneurs infraliminales, et ce, à tel point que nous pouvons nous demander si pléthore d'autres composés, que nous n'avons jusqu'à aujourd'hui testés qu'à des teneurs supraliminales, ne sont pas susceptibles de présenter un comportement tout aussi particulier une fois présent aux teneurs infraliminales auxquelles ils peuvent se trouver dans les vins.

Nos données concernant les mélanges complexes montrent, la plupart du temps, que toute modification compositionnelle, concernant même un composé présent à une teneur de l'ordre du pourcent de son seuil de perception, affecte les caractéristiques olfactives. L'arôme d'un mélange ne semble donc pas pouvoir être simplement réduit à la somme de ses composantes ni être le résultat de la dominance d'un seul composé. Au contraire, il apparaît que l'ensemble des constituants affecte le caractère aromatique global. Les modèles concernant les interactions aromatiques de molécules volatiles se heurtent à la complexité de cette réalité sensorielle et, de plus, se sont surtout limitées aux mélanges binaires. L'idée de développer des éléments de modélisation visant à prédire les effets résultant du mélange de plusieurs odorants dans une matrice aussi complexe que le vin paraît fascinante mais relève, au vu de l'état actuel des connaissances, du doux rêve.

Enfin, il est bon de rappeler que ce travail d'observation et d'analyse sensorielle, peut être complété par des recherches sur les niveaux de traitements de ces interactions perceptives, comme les interactions au niveau des récepteurs, les interactions électrophysiologiques au niveau périphérique du système nerveux ou même dans le système nerveux central. Il serait particulièrement intéressant afin d'entrer effectivement dans la mécanique de perception, de pouvoir montrer le véritable siège des phénomènes que nous avons pu mettre en exergue.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Acree T.A., Lavine E.H. and Shure K. **1993**. The aroma of non vinifera grappes. In : *Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins*. Bayonove C., Crouzet J., Flanzky C., Martin J.C. et Sapis J.C. Montpellier, France. *Revue française d'Œnologie*, 51-57

Acree T.E., Barnard J. and Cunningham D.G. **1984**. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chemistry*, **14**, 273-286

Acree T.E., Butts R.M., Nelson R.R. and Lee C.Y. **1976**. Sniffer to determine the odor of gas chromatographic effluents. *Analytical Chemistry*, **48**, 1821-1822

Amoore J.E., Venstrom D. and Davis A.R. **1968**. Measurement of specific anosmia. *Perceptual and Motor Skills*, **26**, 143-164

Analyse sensorielle. Appareillage. Verre à dégustation pour l'analyse sensorielle des vins. **ISO 3591(1977)**. In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR

Analyse sensorielle-Directives générales pour la conception de locaux destinés à l'analyse. **NF EN ISO 8589 (2010)**. In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR

Analyse sensorielle-Méthodologie-Essai triangulaire. **NF EN ISO 4120 (2007)**. In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR

Analyse sensorielle-Méthodologie-Lignes directrices générales pour la mesure des seuils de détection d'odeur, de flaveur et de goût par une technique à choix forcé de 1 parmi 3 (3-AFC). **ISO 13301 (2002)**. In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR

Analyse sensorielle-Recherche et sélection de descripteurs pour l'élaboration d'un profil sensoriel, par approche multidimensionnelle. **ISO 11035 (1995)**. In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR

Analyse sensorielle-Vocabulaire. **ISO 5492 (2009)**. In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR

Anocibar-Beloqui A., **1998**. Contribution à l'étude des composés soufrés volatils des vins rouges. Thèse de doctorat, Université Victor Segalen Bordeaux 2 : Bordeaux, France

- Anocibar-Beloqui A., Kotseridis Y. and Bertrand A. **1996**. Détermination de la teneur en sulfure de diméthyle dans quelques vins rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **30**, 167-170
- Antalick G., **2010**. Bilan biochimique et sensoriel des modifications de la note fruitée des vins rouges lors de la fermentation malolactique : Rôle particulier des esters. Thèse de doctorat n°1792, Université Victor Segalen Bordeaux 2 : Bordeaux, France
- Antalick G., Perello M.C. and de Revel G. **2010**. Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, **121**, 1236-1245
- Aronson J. and Ebeler S.E. **2004**. Effect of Polyphenol Compounds on the Headspace Volatility of Flavors. *American Journal of Enology and Viticulture*, **55(1)**, 13-21
- Astic L. and Saucier D. **1986**. Anatomical mapping of the neuroepithelial projection to the olfactory bulb in the rat. *Brain Research Bulletin*, **16**, 445-454
- Astic L., Saucier D. and Holley A. **1987**. Topographical relationships between olfactory receptor cells and glomerular foci in the rat olfactory bulb. *Brain Research Bulletin*, **424**, 144-152
- Atanasova B. **2004**. Etude psychophysique qualitative et quantitative des mélanges d'odeurs. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne
- Atanasova B., Thomas-Danguin T., Chabanet C., Langlois D., Nicklaus S. and Etievant P. **2005a**. Perceptual interactions in odour mixtures : odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, **30**, 209-217
- Atanasova B., Thomas-Danguin T., Langlois D., Nicklaus S. and Etievant P. **2004**. Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, **19**, 476-482
- Axel R. **1995**. De la molécule à l'odeur. *Pour la science*, **218**, 60-65

Ayabe-Kanamura S., Schicker I., Laska M., Hudson R., Distel H., Kobayakawa T. and Saito S. **1998**. Differences in perception of everyday odors : a Japanese–German cross-cultural study. *Chemical Senses*, **23**, 31-38

Aznar M., López R., Cacho J. and Ferreira V. **2003**. Prediction of aged red aroma properties from aroma chemical composition. Partial least square regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2700-2707

Aznar M., López R., Cacho J.F. and Ferreira V. **2001**. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-Olfactometry, quantitative GC-MS and odor evaluation of HPLC fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 2924-2929

B

Baker R.A. **1963**. Odor effects of aqueous mixtures of organic chemicals. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **35**, 728-741

Ballester J. **2004**. Mise en évidence d'un espace sensoriel et caractérisation des marqueurs relatifs à l'arôme des vins issus du cépage Chardonnay. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne

Ballester J., Abdi H., Langlois J., Peyron D. and Valentin D. **2009**. The Odor of Colors : Can Wine Experts and Novices Distinguish the Odors of White, Red, and Rosé Wines? *Chemosensory Perception*, **2**, 203-213

Barbe J.-C., Pineau B. and Silva Ferreira A.C. 2008. Instrumental and sensory approaches for the characterization of compounds responsible for wine aroma. *Chemistry and Biodiversity*, **5**, 1170-1183

Bayonove C.L., Baumes R.L., Crouzet J. and Gunata Y.Z. **1998**. Arômes, In *Œnologie : Fondements Scientifiques et Technologiques*, C. Flanzy (Coordonnateur), Cap. n° 5. *Lavoisier Tec & Doc (Eds.)*, Paris, 163-235

- Béguin P. and Costermans J. **1994**. Le traitement de l'information olfactive. *L'Année Psychologique*, **94**, 99-122
- Berglund B. **1974**. Quantitative and qualitative analysis of industrial odors with human observers. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **237**, 35-51
- Berglund B. and Olsson M.J. **1993**. Odor-intensity interaction in binary and ternary mixtures. *Perception and Psychophysics*, **53**, 475-482
- Berglund B., Berglund U. and Lindvall T. **1976**. Psychological processing of odor mixtures. *Psychological Review*, **83(6)**, 432-41
- Berglund B., Berglund U., Lindvall T. and Svensson L.T. **1973**. A quantitative principle of perceived intensity summation in odor mixtures. *Journal of Experimental Psychology*, **100**, 29-38
- Bertrand A. **1983**. Volatiles from grape must fermentation. In : *Flavour of distilled beverages. Origin and development*. Pigott J.R. Grande Bretagne, Ellis Horwood (Eds.) LDT Chichester, 93-109
- Bertrand A., Zmirou-Bonnamour C. and Lonvaud-Funel A. **1984**. Aroma compounds formed by malolactic bacteria. In : Nykanen, L., Lehtonen, P. (Eds.), Proceedings of the Alko Symposium on *Flavour Research of Alcoholic Beverages*, Helsinki. *Foundation for Biotechnical and Industrial Fermentation Research*, 39-49
- Bicalho B., Pereira A.S., Aquino Neto F. R., Pinto A.C. and Rezende C.M. **2000**. Application of high-temperature gas chromatography mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anacardium occidentale* L. var. *nanum*) volatiles. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **48**, 1167-1174
- Blanchard L. **2000**. Recherche sur la contribution de certains thiols volatils à l'arôme des vins rouges. Etude de leur genèse et de leur stabilité. Thèse de Doctorat, Université Victor Segalen Bordeaux 2 : Bordeaux, France
- Boido E., Carrau F., Dellacassa E., Lloret A., Medina K. and Versini G. **1999**. Modificaciones producidas por la fermentación maloláctica en la composición aromática de las fracciones

libre y ligada para la variedad Tannat. VII Congreso Latino-americano de Viticultura y Enología, Mendoza, Argentina

Boido E., Medina K., Farina L., Carrau F., Versini G. and Dellacassa E. **2009**. The Effect of Bacterial Strain and Aging on the Secondary Volatile Metabolites Produced during Malolactic Fermentation of Tannat Red Wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **57**, 6271-6278

Boidron J.N. and Torres P. **1982**. Etude et recherche d'un indicateur aromatique des VDN muscats. Bulletin technique des P.O., n° 105- (Edit. Chambre d'agriculture des P.O., Perpignan)

Bouchilloux P., Darriet Ph., Henry R., Lavigne-Cruège V. and Dubourdieu D. **1998**. Identification of volatile and powerful odorous thiols in Bordeaux red wines varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 3095-3099

Brand G. **1999**. La latéralisation olfactive chez l'homme : revue de la littérature. *Clinical Neurophysiology*, **29**, 495-506

Brand G. **2001**. *L'olfaction : de la molécule au comportement*. Marseille : Solal

Brenna E., Fuganti C. and Serra S. **2003**. Enantioselective perception of chiral odorants. *Tetrahedron : Asymmetry*, **14**, 1-42

Brodin M., Laska M. and Olsson M.J. **2009**. Odor interaction between Bourgeonal and its antagonist undecanal. *Chemical Senses*, **34**, 625-630

Brossard C., Rousseau F. and Dumont J.P. **2007**. Perceptual interactions between characteristic notes smelled above aqueous solutions of odorant mixtures. *Chemical Senses*, **32**, 319-327

Buck L.B. and Axel R. **1991**. A novel multigene family may encode odorant receptors : a molecular basis for odor recognition. *Cell*, **65**, 175-187

Buttery R.G., Ling L.C. and Stern, D.J. **1997**. Studies on Popcorn Aroma and Flavor Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45(3)**, 837-843

Buttery R.G., Teranishi R., Ling L.C. and Turnbaugh J.G. **1990**. Quantitative and sensory studies on tomato paste volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **38**, 336-340

C

Cain W.S. **1979**. To know with the nose : Keys to odour identification. *Science*, **203**, 467-470

Cain W.S. and Drexler M. **1974**. Scope and evaluation of odor counteraction and masking. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **237**, 427-439

Cain W.S. and Gent J.F. **1991**. Olfactory sensitivity : Reliability, generality and association with aging. *Journal of Experimental Psychology : Human perception and performance*, **17**, 382-391

Cain W.S. **1975**. Odor intensity : mixtures and masking. *Chemical Senses and Flavor*, **1**, 339-352

Cain W.S., Gent J F., Goodspeed R.B. and Leonard G. **1988**. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut chemosensory clinical research center. *Laryngoscope*, **98**, 83-88

Cain W.S., Schiet F.T., Olsson M.J. and Wijk R.A. **1995**. Comparison of models of odor interaction. *Chemical Senses*, **20**, 625-637

Câmpeanu G., Burcea M., Doneanu C., Namolosanu I. and Visan L. **1998**. GC/MS characterization of the volatiles isolated from the wines obtained from the indigenous cultivar *Feteasca Regală*. *Analisis*, **26**, 93-97

Campo E., Cacho J. and Ferreira V. **2007**. Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters. Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, **1140**, 180-188

Campo E., Ferreira V. and Cacho J. **2006**. Multidimensional chromatographic approach applied to the identification of four novel aroma compounds in wine. Identification of ethyl

cyclohexanoate, ethyl 2-hydroxy-3-methylbutyrate and 2-hydroxy-4- methylpentanoate. *Journal of Chromatography A*, **1137**, 223-230

Campo E., Ferreira V., Escudero A. and Cacho J. **2005**. Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic headspace gas chromatography–olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 5682-569

Cha S.S. **1998**. Sensory test methods. In H. J. Rafson (Ed.), *Odor and VOC control handbook* (pp. 4.16-4.33). USA : McGraw-Hill

Chaput M.A., El Mountassir F., Atanasova B., Thomas-Danguin T., Le Bon A. M., Perrut A., Ferry B. and Duchamp-Viret P. **2012**. Interactions of odorants with olfactory receptors and receptor neurons match the perceptual dynamics observed for woody and fruity odorant mixtures. *European Journal of Neuroscience*, **35** (4), 584-597

Chastrette M. **1997**. *Trends in structure-odor relationships*. *Sar & Qsar in Environmental Research* 6, 215-54

Chess A., Simon I., Cedar H. and Axel R. **1994**. Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell*, **78**, 823-834

Christoph N., Gessner M., Simat T.J. and Hoenicke K. **1999**. Off-flavor compounds in wine and other food products formed by enzymatical, physical, and chemical degradation of tryptophan and its metabolites. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **467**, 659-669

Cometto-Muñiz J.E. and Abraham M.H. **2008**. Human olfactory detection of homologous n-alcohols measured via concentration - response functions. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **89**, 279-291

Cometto-Muñiz J.E. and Cain W.S. **1995**. *Olfactory Adaptation*, in *Handbook of Olfaction and Gustation*, Doty R.L. Editor, Marcel Dekker Inc., **New York**, 257-281

Culleré L., Escudero A., Cacho J. and Ferreira V. **2004**. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 1653-1660

D

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

De Mora S.J., Eschenbruch R., Knowles S.J. and Spedding D.J. **1986**. The formation of dimethyl sulphide during fermentation using a wine yeast. *Food Microbiology*, **3 (1)**, 27-32

De Mora S.J., Lee P., Shooter D. and Eschenbruch R. **1993**. The analysis and importance of dimethylsulfoxide in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, **44**, 327-32

de Revel G. **1992**. Le diacétyl, les composés dicarbonylés et leurs produits de réactions dans les vins. Thèse de doctorat n° 190, Université Victor Segalen Bordeaux 2 : Bordeaux, France

de Revel G. and Bertrand A. **1994**. Dicarbonyl compounds and their reduction products in wine. Identification of wine aldehydes. *Proceedings of the 7th Weurman Flavour Research Symposium, Zeist, June*, 353-361

de Revel G., Pripis-Nicolau L., Barbe J.-C. and Bertrand A. **2000**. The detection of -dicarbonyl compounds in wine by formation of quinoxaline derivatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 102-108

Demole E., Enggist P., Säuberli U., Stoll M. and Kováts E. **1970**. Structure et synthèse de la damascénone (triméthyl-2, 6, 6-trans-crotonoyl-1-cyclohexadiène-1, 3), constituant odorant de l'essence de rose bulgare (*rosa damascena* Mill). *Helvetica Chimica Acta*, **53**, 541-551

Derby C.D., Ache B.W. and Kennel E.W. **1985**. Mixture suppression in olfaction : electrophysiological evaluation of the contribution of peripheral and central neural components. *Chemical Senses*, **10**, 301-316

Desor J.A. and Beauchamp G.K. **1974**. The human capacity to transmit olfactory information. *Perception and Psychophysics*, **16**, 551-556

Diaz-Maroto M.C., Schneider R. and Baumes R. **2005**. Formation pathways of ethyl esters of branched short-chain fatty acids during wine aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 3503-3509

- Distel H., Ayabe-Kanamura S., Martinez-Gomez M., Schicker I., Kobayakawa T., Saito S. and Hudson R. **1999**. Perception of everyday odors—correlation between intensity, familiarity and strength of hedonic judgement. *Chemical Senses*, **24**, 191-199
- Doty R., Applebaum S., Zusho H. and Settle R.G. **1985**. Sex differences in odor identification ability : a cross-cultural analysis. *Neuropsychologia*, **23**, 667-682
- Doty R.L. and Cameron E.L. **2009**. Sex differences and reproductive hormone influences on human odor perception. *Physiology and Behavior*, **97**, 213-228
- Doty R.L., Shaman P., Applebaum S.L., Giberson R., Sikorski L. and Rosenberg L. **1984**. Smell identification ability : Changes with age. *Science*, **226**, 1441-1443
- Doty R.L., Snyder P.J., Huggins G.R. and Lowry L.D. **1981**. Endocrine, cardiovascular, and psychological correlates of olfactory sensitivity changes during the human menstrual cycle. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **95**, 45-60
- Du Plessis H.W., Steger C.L.C., Du Toit M. and Lambrechts M.G. **2002**. The occurrence of malolactic fermentation in brandy base wine and its influence on brandy quality. *Journal of Applied Microbiology*, **92**, 1005-1013
- Dubois P. **1993**. Les arômes des vins et leurs défauts. *Revue française d'Œnologie*, **144**, 63-76
- Dufossé L., Latrasse A. and Spinnler H.E. **1994**. Importance des lactones dans les arômes alimentaires : structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. *Sciences des Aliments*, **9**, 427-454
- Dufour C. and Bayonove C.L. **1999a**. Influence of Wine Structurally Different Polysaccharides on the Volatility of Aroma Substances in a Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47 (2)**, 671-677
- Dufour C. and Bayonove C.L. **1999b**. Interactions between Wine Polyphenols and Aroma Substances. An Insight at the Molecular Level. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47 (2)**, 678-684

Dufour C. and Sauvaitre I. **2000**. Interactions between Anthocyanins and Aroma Substances in a Model System. Effect on the Flavor of Grape-Derived Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48** (5), 1784-1788

E

Engen T. **1982**. The perception of odors. *Academic Press*, New York, 104-105

Engen T. and Pfaffman C. **1960**. Absolute judgments of odor quality. *Journal of Experimental Psychology*, **5**, 214-219

Engen T. and Ross B.M. **1973**. Long term memory of odours with and without verbal descriptions. *Journal of Experimental Psychology*, **100**, 221-227

Escudero A., Campo E., Fariña L., Cacho J. and Ferreira V. **2007**. Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 4501-4510

Escudero A., Gogorza B., Melus M.A., Ortin N., Cacho J. and Ferreira V. **2004**. Characterization of the aroma of a wine from maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **52**, 3516-3524

Etiévant P. **1991**. Wine. In : *Volatile compounds in foods and beverages*. Maarse H. New-York, Dekker (Eds.), 483-546

Etiévant P. and Bayonove C. **1983**. Aroma components of pomaces and wine from the variety Muscat de Frontignan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **34**, 393-403

F

Falcao L.D., Lytra G., Darriet P., Barbe J.-C. **2012**. Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. *Food Chemistry*, **132**, 230-236

Fechner G.T. **1860**. *Element der Psychophysik*, Leipzig, Breikopf und Härtel Ed., 907p

Feller W. **1968**. An introduction to probability theory and its applications. *In Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics*, 3rd ed.; New York, Vol. 1

Féron F., Mackay-Sim A., Andrieu J.L., Matthaei K.I., Holley A. and Sicard G. **1999**. Stress induces neurogenesis in non-neuronal cell cultures of adult olfactory epithelium. *Neuroscience*, **88**, 571-583

Ferreira V. **2012**. Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures : a flavour chemistry view. Part 1 : intensity and detectability. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, **27**, 124-140

Ferreira V., Aznar M., Lopez R. and Cacho J. **2001**. Quantitative gas chromatography-olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish ages red wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, **49**, 4818-4824

Ferreira V., Jarauta I., Lopez R. and Cacho J. **2003**. Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extraction and gas chromatography-ion-trap mass spectrometry. *ExTech 2005-7th International Symposium on Advances in Extraction Technologies*, **1010 (1)**, 95-103

Ferreira V., Jarauta I., Ortega L. and Cacho J. **2004**. Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients : Application to the determination of aliphatic lactones in wine. *ExTech 2005-7th International Symposium on Advances in Extraction Technologies*, **1025 (2)**, 147-156

Ferreira V., López R. and Cacho J. **2000**. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80 (11)**, 1659-1667

Ferreira V., Ortin N., Escudero A., López R. and Cacho J. **2002**. Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines : Aroma Extract Dilution Analysis, Quantitative Determination, and Sensory Reconstitution Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4048-4054

Firestein S. **2001**. How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*, **413**, 211-218

Fischer U. and Loewe-Stanienda B. **1999**. Importance du verre de dégustation dans l'évaluation sensorielle. In : *La dégustation. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 73-83

Freitag J., Ludwig G., Andreini I., Rössler P. and Breer H. **1998**. Olfactory receptors in aquatic and terrestrial vertebrates. *Journal of Comparative Physiology A*, **183**, 635-650

Frijters J.E.R. **1987**. Psychophysical Models for Mixtures of Tastants and Mixtures of Odorants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **510**, 67-78

G

Gambaro A., Boido E., Zlotejablko A., Medina K., Lloret A., Dellacassa E. and Carrau F. **2001**. Effect of malolactic fermentation on the aroma properties of Tannat wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **7**, 27-32

Garruti D.S., Franco M.R.B., Da Silva M.A.A.P., Janzanti N.S. and Alves G.L. **2003**. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**, 1455-1462

Getchell T.V. and Getchell M.L. **1977**. Early events in vertebrate olfaction. *Chemical Senses*, **2**, 313-326

Getchell T.V., Margolis F.L. and Getchell M.L. **1984**. Perireceptor and receptor events in vertebrate olfaction. *Progress in Neurobiology*, **23**, 317-345

Gilbert A.N. and Wysocki C.J. **1987**. The smell survey results. *National Geographic*, **172**, 514-524

Gilbert A.N., Martin R. and Kemp S.E. **1996**. Cross-modal correspondence between vision and olfaction : The color of smell. *American Journal of Psychology*, **109**, 335-351

Gottfried J.A. **2006**. Smell : central nervous processing. *Advances in Oto-Rhino-Laryngology*, **63**, 44-69

Graziadei P.P.C. and Metcalf J.F. **1971**. Autoradiographic studies of frog's olfactory mucosa. *Zeitschrift ffir Zellforschung*, **116**, 305-18

Guadagni D.G., Buttery R.G. and Okano S. **1963**. Odor thresholds of some organic compounds associated with food flavors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **14**, 761-765

Guedes de Pinho P. and Bertrand A. **1995**. Analytical determination of furaneol (2, 5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone). Application to differentiation of white wines from hybrid and various *Vitis vinifera* cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46**, 181-186

Gulas C.S. and Bloch P. **1995**. Right under our noses : ambient scent and consumer responses. *Journal of Business and Psychology*, **10(1)**, 87-98

Guth H. **1997**. Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45(8)**, 3027-3032

H

Henick-Kling T., Acree T.E., Krieger S., Laurent A. and Edinger W.D. **1994**. Modification of wine flavor by malolactic fermentation. *Wine East*, **4**, 8-15 and 29-30.

Herz R. and Engen T. **1996**. Odor memory : Review and analysis. *Psychonomic Bulletin and Review*, **3**, 300-313

Holley A. and MacLeod P. **1977**. Transduction et codage des informations olfactives chez les vertébrés. *Journal de Physiologie*, **73**, 725-828

Holley A., Duchamp A., Reviel M., Juge A. and MacLeod P. **1974**. Qualitative and quantitative discrimination in the frog olfactory receptors : analysis from electrophysiological data. *Annals of the New York Academy of Science*, **237**, 102-114

Hudson R. and Distel H. **2003**. La nature subjective du monde des odeurs : considérations théoriques et conséquences méthodologiques. *Psychologie Française*, **48(4)**, 103-115.

J

Jackson R.S. **1994**. Wine science, principles and applications. San Diego : Academic Press, Inc.

Jackson R.S. **2002**. Wine Tasting. *A Professional Hand Book : Academic Press*

Jones F. **1968**. Information content of olfactory quality, in N. Tanyolac (Edit.), Theories of odor and odor measurement, Bebek (Istanbul). *Robert College Research Center*, 133

Jones F.N. and Jones M.H. **1953**. Modern theories of olfaction : A critical review. *Journal of Psychology*, **36**, 207-241

Joyeux A., Lafon-Lafourcade S. and Ribéreau-Gayon P. **1984**. Metabolism of acetic acid bacteria in grape must : consequences on alcoholic and malolactic fermentation. *Science des Aliments*, **4**, 247-255

K

Keim H., de Revel G. and Bertrand A. **2002**. Instrumental and sensory evaluation of malolactic fermentation wine. *Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium*. Beaune, France

Kendall D.A. and Neilson A.J. **1966**. Sensory and chromatographic analysis of mixtures formulated from pure odorants. *Journal of Food Science*, **31**, 268-274

Kinlin T.E., Muralidhara R., Pittet A.O., S Anderson A. and Walradt J.P. **1972**. Volatile components of roasted filberts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **20**, 1021-1028

Ko H.J. and Park T.H. **2008**. Enhancement of odorant detection sensitivity by the expression of odorant-binding protein. *Biosens Bioelectron*, **23**, 1017-1023

Koelega H.S. **1994**. Diurnal variations in olfactory sensitivity and the relationship to food intake. *Perceptual and Motor Skills*, **78**, 215-226

Koelega H.S. and Koster E.P. **1974**. Some experiments on sex differences in odour perception. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **237**, 234-247

Konstantinidis I., Hummel T. and Larsson M. **2006**. Identification of unpleasant odors is independent of age. *Archive of Clinical Neuropsychology*, **21**, 615-621

Kotseridis Y. **1999**. Etude de l'arôme des vins de Merlot et Cabernet-Sauvignon de la région bordelaise. Thèse de doctorat, Université Victor Ségalen Bordeaux 2

Kotseridis Y. and Baumes R. **2000**. Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation and in the produced wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 400-406

Kotseridis Y., Baumes R. and Skouroumounis G.K. **1999a**. Quantitative determination of free and hydrolytically liberated b-damascenone in red grapes and wines using a stable isotope dilution assay. *Journal of Chromatography A.*, **849**, 245-254

Kotseridis Y., Baumes R., Bertrand A. and Skouroumounis G. **1999b**. Quantitative determination of b-ionone in red wines and grapes of Bordeaux using a stable isotope dilution assay. *Journal of Chromatography A.*, **848**, 325-333

L

Laffort P. **1989**. Models for describing intensity interactions in odor mixtures : a reappraisal. In Laing, D.G., Cain, W.S., McBride, R.L. and Ache, B.W. (eds), *Perception of Complex Smells and Tastes*. Academic Press, Marrickville, pp. 205–223

Laffort P. and Dravnieks A. **1982**. Several models of suprathreshold quantitative olfactory interaction in humans applied to binary, ternary and quaternary mixtures. *Chemical Senses*, **7**, 153-174

- Laffort P., Patte F. and Etchetto M. **1984**. Inférence de la loi de puissance dans les phénomènes de synergie et d'inhibition de la perception olfactive. *The Journal of Physiology*, **79**, 63A-64A
- Laing D.G. and Francis G. **1989**. The capacity of humans to identify odors in mixtures. *Physiology and Behavior*, **46**, 809-814
- Laing D.G. and Willcox M.E. **1983**. Perception of components in binary odour mixtures. *Chemical Senses*, **7**, 249-264
- Laing D.G., Panhuber H., Willcox M.E. and Pittman E.A. **1984**. Quality and intensity of binary odor mixtures. *Physiology and Behavior*, **33**, 309-319
- Lanza D.C. and Clerico D.M. **1995**. *Anatomy of the human nasal passages*, in Handbook of Olfaction and Gustation, Doty R.L. Editor, Marcel Dekker Inc., New York, 53-73
- Larousse des vins. **1998**. Paris, France, Larousse-Bordas (Eds.), 84
- Larsson M., Nilsson L.G., Olofsson J.K. and Nordin S. **2004**. Demographic and cognitive predictors of cued odor identification : evidence from a population-based study. *Chemical Senses*, **29** (6), 547-554
- Lawless H. and Engen T. **1977**. Association to odors : Interference, mnemonics and verbal labelling. *Journal of Experimental Psychology : Human Learning and Memory*, **3**, 52-59
- Lawless H.T. **1977**. The pleasantness of mixtures in taste and olfaction. *Sensory Processes*, **1**, 227-237
- Lawless H.T. and Heymann H. **1998**. *Sensory Evaluation of Food : Principles and Practices*. New York, United States of America, Chapman and Hall (Eds.)
- Le Berre E., Atanasova B., Langlois D., Etiévant P. and Thomas- Danguin T. **2007**. Impact of ethanol on the perception of wine odorant mixtures. *Food Quality and Preference*, **18**, 901-908

- Le Berre E., Thomas-Danguin T., Béno N., Coureaud G., Etiévant P. and Prescott J. **2008**. Perceptual processing strategy and exposure influence the perception of odor mixtures. *Chemical Senses*, **33**, 193-199
- Ledauphin J., Saint-Clair J.F., Lablanquie O., Guichard H., Fournier N., Guichard E. and Barillier D. **2004**. Identification of trace volatile compounds in freshly distilled calvados and cognac using preparative separations coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **52**, 5124-5134
- Livermore A. and Laing D.G. **1996**. The influence of training and experience on the perception of multicomponent odor mixtures. *Journal of Experimental Psychology : Human Perception and Performance*, **22**, 267-277
- Livermore A. and Laing D.G. **1998**. The influence of chemical complexity on the perception of multicomponent odor mixtures. *Perception and Psychophysics*, **60**, 650-661
- Lloret A., Boido E., Lorenzo D., Medina K., Carrau F., Dellacassa E. and Versini G. **2002**. Aroma variation in tannat wines : effect of malolactic fermentation on ethyl lactate level and its enantiomeric distribution. *Italian Journal of Food Science*, **14 (2)**, 175-180
- López R., Aznar M., Cacho J. and Ferreira V. **2002**. Determination of minor and trace volatile compounds by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, **966**, 167-177
- López R., Ferreira V., Hern Andez P. and Cacho J. **1999**. Identification of impact odorants of young red wines made with Merlot, Cabernet Sauvignon and Grenache grape varieties : a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79 (11)**, 1461-1467
- López R., Ortin N., Perez-Trujillo J. C., Cacho J. and Ferreira V. **2003**. Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 3419-3425
- Lorrain B., Irtumendi N., Tempere S., de Revel G., Moine V. and Teissedre P.L. Influence of phenolic compounds and oenological tannins on the sensorial perception and volatility of red wine aroma compounds : an insight in model solution. In *Macrowine-Macrovision of viticulture, wine-making and markets*. Bordeaux, juin 2012

Loscos N., Hern Andez-Orte P., Cacho J. and Ferreira V. **2007**. Release and Formation of Varietal Aroma Compounds during Alcoholic Fermentation from Nonfloral Grape Odorless Flavor Precursors Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55 (16)**, 6674-6684

Loscos N., Ségurel M., Dagan L., Sommerer N., Marlin T. and Baumes R. **2008**. Identification of S-methylmethionine in Petit Manseng grapes as dimethyl sulphide precursor in wine. *Analytica Chimica Acta*, **621 (1)**, 24-29

Luccarelli D.Jr., Mookherjee B.D., Wilson R.A., Zampino M.J. and Bowen D.R. **1984**. Mixtures of one or more C4–C10 -n-alkanoic acids with the ethyl ester of 2-hydroxy-4-methyl pentanoic acid. *International Flavors and Fragrances*, New York, U.S. Patent 4526798

M

MacLeod P. **1971**. Structure and function of higher olfactory centers. In L. M. Beidler (Ed.). *Handbook of sensory physiology : Olfaction* (Vol. 4). Berlin : Springer-Verlag

Malnic B., Hirono J., Sato T. and Buck L.B. **1999**. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, **96**, 713-23

Marais J. **1978**. The effects of pH on esters and quality of Colombar wine during maturation. *Vitis*, **17**, 396-403

Marais J. **1979**. Effect of storage time and temperature on the formation of dimethyl sulphide and on white wine quality. *Vitis*, **18**, 254-260

Marais J. **1983**. Terpenes in the aroma of grapes and wines : a review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, **42**, 49-60

Marais J. and Pool H.J. **1980**. Effect of storage time and temperature on the volatile composition and quality of dry white table wines. *Vitis*, **19**, 151-164

Martin N. and de Revel G. **1999**. Sensory evaluation : scientific bases and oenological applications. *Journal International des Science de la Vigne et du Vin*, **Special Issue**, 81- 93

- Martineau B., Acree T. and Henick-Kling T. **1995**. Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International*, **28**, 139-143
- Masneuf-Pomarède I., Bely M., Marullo F., Lonvaud-Funel A. and Dubourdieu D. **2010**. Reassessment of phenotypic traits for *Saccharomyces bayanus var. uvarum* wine yeast strains. *International Journal of Food Microbiology*, **139**, 79-86
- Mc Daniel M., Henderson L.A., Watson B.T. and Heatherbell D. **1987**. Sensory panel training and screening for descriptive analysis of the aroma of pinot noir wine fermented by several strains of malolactic bacteria. *Journal of Sensory Studies*, **2**, 149-167
- Menco B.P., Cunningham A.M., Qasba P., Levy N. and Reed R.R. **1997**. Putative odour receptors localize in cilia of olfactory receptor cells in rat and mouse : a freeze-substitution ultrastructural study. *Journal of Neurocytology*, **26**, 691-706
- Mestres M., Busto O. and Guasch J. **2000**. Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. *Journal of Chromatography A*, **881**, 569-581
- Moio L. and Etievant P.X. **1995**. Ethyl Anthranilate, Ethyl Cinnamate, 2, 3-Dihydrocinnamate, and Methyl Anthranilate : Four Important Odorants Identified in Pinot noir Wines of Burgundy. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46 (3)**, 392-398
- Moreno J.A., Zea L., Moyano L. and Medina M. **2005**. Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. *Food Control*, **16 (4)**, 333-338
- Morrot G., Brochet F. and Dubourdieu D. **2001**. The color of odors. *Brain and Language*, **79**, 309-320
- Moskowitz H.R. and Barbe C.D. **1977**. Profiling of odor components and their mixtures. *Sens Processes*, **1**, 212-226
- Moskowitz H.R., Dravnieks A. and Klarman L.A. **1976**. Odor intensity and pleasantness for a diverse set of odorants, *Perception & Psychophysics*, **19(2)**, 122-128
- Moskowitz H.R., Dubose C.N. and Reuben M.J. **1977**. Flavor chemical mixtures-a psychophysical analysis, paper presented at the symposium, Objective Measurement of Flavor Quality, R.A Scanlan, Ed. *American Chemical Society : California*, 29-44

Moulton D.G. and Tucker D. **1964**. Electrophysiology of the olfactory system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **116**, 380-428

N

Nelson R.R., Acree T.E., Lee C.Y. and Butts R.M. **1977**. Methyl anthranilate as an aroma constituent of american wine. *Journal of Food Science*, **42 (1)**, 57-59

O

Olsson M.J. **1993**. The perception of odors in interaction. PhD Thesis, University of Stockholm, Stockholm

Olsson M.J. **1994**. An interaction-model for odor quality and intensity. *Perception & Psychophysics*, **55**, 363-372

Olsson M.J. **1998**. An integrated model of intensity and quality of odor mixtures. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **855**, 837-840

P

Patte F. and Laffort P. **1979**. An alternative model of olfactory quantitative interaction in binary mixtures. *Chemical Senses and Flavor*, **4**, 267-274

Peinado R.A., Moreno J., Bueno J.E., Moreno J.A. and Mauricio J.C. **2004**. Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, **84**, 585-590

Pelosi P. **1994**. Odorant-binding proteins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **29**, 199-228

Peynaud E. and Blouin J. **2006**. Le goût du vin-Le grand livre de la dégustation. Paris, Editions Dunod

Peyrot des Gachons C., Tominaga T. and Dubourdiou D. **2002**. Sulfur aroma precursor present in S-glutathione conjugate form; Identification of S-3-(Hexan-1-ol)-glutathione in must from *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50 (14)**, 4076-4079

Pineau B. **2007**. Contribution à l'étude de l'arôme fruité spécifique des vins rouges de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot noir et Cabernet-Sauvignon. Thèse de doctorat n° 1484, Université Victor Segalen Bordeaux 2 : Bordeaux, France

Pineau B., Barbe J.-C., Van Leeuwen C. and Dubourdiou D. **2007**. Which Impact for Beta-Damascenone on Red Wines Aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55(10)**, 4103-4108

Pineau B., Barbe J.-C., Van Leeuwen C. and Dubourdiou D. **2009**. Examples of perceptive interactions involved in specific “red- and black-berry” aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 3702-3708

Pineau B., Barbe J.-C., Van Leeuwen C. and Dubourdiou D. **2010**. Olfactory specificity of red- and black-berry fruit aromas in red wines and contribution to the red Bordeaux wine concept. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **44**, 39-49

Piombino P., Nicklaus S., Le Fur Y., Moio L. and Le Quéré J. L. **2003**. « Berry » aroma of wine : sensory and olfactory analysis. In : *Flavour research at the dawn of the Twentyfirst century. Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium*. Paris, France, Lavoisier (Eds.), p. 702-705.

Plotto A., Barnes K.W. and Goodner K. L. **2006**. Specific anosmia observed for α -ionone, but not for R-ionone : significance for flavor research. *Journal of Food Science*, **71**, S401-S406

Plotto A., Margaría C.A., Goodner K.L., Goodrich R. and Baldwin E.A. **2004**. Odour and flavour thresholds for key aroma components in an orange juice matrix : terpenes and aldehydes. *Flavour and Fragrance Journal*, **19**, 491-498

Pons A., Lavigne V., Landais Y., Darriet P. and Dubourdiou D. **2008**. Distribution and organoleptic impact of sotolon enantiomers in dry white wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **56**, 1606-1610

R

Rapp A., Kripser W., Engel L., Ullemeyer H. and Heimann W. **1980**. Off- flavor compounds in the berry and wine aroma of grapevine hybrids. I. The strawberry-like flavor. *Vitis*, **19**, 13-23

Ribéreau-Gayon P., Boidron J.N. and Terrier A. **1975**. Aroma of Muscat Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **23**, 1042-1047

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A. and Dubourdiou D. **2006**. Handbook of Enology. The chemistry of wine : Stabilisation and Treatments Chichester, Wiley. 2^{ème} édition

Richardson J.T.E. and Zucco G.M. **1989**. Cognition and Olfaction : A review. *Psychological Bulletin*, **105(3)**, 352-360

Rienäcker R. and Ohloff G. **1961**. Optisch aktives -Citronellol aus (+)- oder (-) Pinan. *Angewandte Chemie*, **73**, 240

Rocha S., Ramalheira V., Barros A., Delgadillo I. and Coimbra M.A. **2001**. Headspace Solid Phase Microextraction (SPME) Analysis of Flavor Compounds in Wines. Effect of the Matrix Volatile Composition in the Relative Response Factors in a Wine Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49 (11)**, 5142-5151

Romano A., Perello M.C., Lonvaud-Funel A., Sicard G. and de Revel G. **2009**. Sensory and analytical re-evaluation of 'Brett character. *Food Chemistry*, **114**, 15-19

Rouby C., Thomas-Danguin T., Sicard G., Vigouroux M., Jiang T., Poitevineau J. e and Issanchou S. **2005**. Influence du contexte sémantique sur la performance d'identification d'odeurs. *Psychologie Française*, **50(2)**, 225- 239

Ryan D., Prenzler P.D., Saliba A.J. and Scollary G.R. **2008**. The significance of low impact odorants in global odour perception. *Trends in Food Science and Technology*, **19 (7)**, 383-389

S

Sabon I., de Revel G., Kotseridis Y. and Bertrand A. **2002**. Determination of volatile compounds in Grenache wines in relation with different terroirs in Rhone Valley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6341-6345

Saenz-Navajas M.P., Campo E., Culleré L., Fernandez-Zurbano P., Valentin D. and Ferreira V. **2010**. Effects of the Nonvolatile Matrix on the Aroma Perception of Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58 (9)**, 5574-5585

Saerens S.M.G., Delvaux F., Vestrepen K.J., Van Dijck P., Thevelein J.M. and Delvaux F.R. **2008**. Parameters Affecting Ethyl Ester Production by *Saccharomyces cerevisiae* during Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, **74 (2)**, 454-461

Saerens S.M.G., Verstrepen K.J., Van Laere S.D.M., Voet A.R.D., Van Dijck P., Delvaux F.R. and Thevelein M. **2006**. The *Saccharomyces cerevisiae* EHT1 and EEB1 Genes Encode Novel Enzymes with Medium-chain Fatty Acid Ethyl Ester Synthesis and Hydrolysis Capacity. *Journal of Biological Chemistry*, **281 (7)**, 4446-4456

Sarrazin E., Shinkaruk S., Tominaga T., Bennetau B., Frerot E. and Dubourdieu D. **2007**. Odorous impact of volatile thiols on the aroma of young botrytized sweet wines : identification and quantification of new sulfanyl alcohols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55(4)**, 1437-1444

Saucier D. and Astic L. **1986**. Analysis of the topographical organization of olfactory epithelium projections in the rat. *Brain Research Bulletin*, **16**, 455-462

Sauvageot F. **1990**. Les caractéristiques d'une réponse sensorielle-intensité. Évaluation sensorielle, Manuel méthodologique. SSHA, Lavoisier Tec et Doc, Apria, 15-31

Sauvageot F. and Vivier P. **1997**. Effects of Malolactic Fermentation on Sensory Properties of Four Burgundy Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, **48**, 187-192

- Schemper T., Scott V. and Cain W.S. **1981**. Odour identification in young and elderly persons : Sensory and cognitive limitations. *Journal of Gerontology*, **36**, 446-452
- Schreier P. and Drawert F. **1974**. Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines. I. Unpolare Verbindungen des Weinaromas. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **154**, 273-278
- Schreier P., Drawert F. and Winkler F. **1979**. Composition of neutral volatile constituents in grape brandies. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **27**, 365-372
- Segurel M., Razungles A., Riou Ch., Salles M. and Baumes R.L. **2004**. Contribution of dimethyl sulphide to the aroma of Syrah and Grenache noir wines and estimation of its potential in grapes of these varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 7084-7093
- Selfridge T.B. and Amerine M.A. **1978**. Odor thresholds and interactions of ethyl acetate and diacetyl in an artificial wine medium. *American Journal of Enology and Viticulture*, **29**, 1-6
- Serizawa S., Ishii T., Nakatani H., Tsuboi A., Nagawa F., Asano M., Sudo K., Sakagami J., Sakano H., Ijiri T., Matsuda Y., Suzuki M., Yamamori T. and Iwakura Y. **2000**. Mutually exclusive expression of odorant receptor transgenes. *Nature Neuroscience*, **3**, 687-693
- Shepherd G.M. **2006**. Smell images and the flavour system in the human brain. *Nature*, **444**, 316-321
- Sicard G. and Holley A. **1984**. Receptor cell response to odorants : Similarities and differences among odorants. *Brain Research*, **292**, 283-296
- Sicard G., Chastrette M. and Godinot N. **1997**. Des représentations de l'espace olfactif : des récepteurs à la perception. *Intellectica*, **24**, 85-107
- Stillman J. **1993**. Color influences flavor identification in fruitflavored beverages. *Journal of Food and Science*, **58**, 810-812
- Sumby K.M., Grbin P.R. and Jiranek V. **2010**. Microbial modulation of aromatic esters in wine : Current knowledge and future prospects. *Food Chemistry*, **121** (1), 1-16

Summer D. **1962**. On testing the sense of smell, *Lancet*, A2, n° 7262, 895-897

T

Tat L., Comuzzo P., Battistutta F. and Zironi R. **2007**. Sweet-like off-flavor in aglianico Del Vulture wine : Ethyl phenylacetate as the mainly involved compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55(13)**, 5205-5212

Tegoni M., Pelosi P., Vincent F., Spinelli S., Campanacci V., Grolli S., Ramoni R. and Cambillau C. **2000**. Mammalian odorant binding proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1482**, 229-240

Tempere S., Cuzange E., Bougeant J.C., de Revel G. and Sicard G. **2012**. Explicit Sensory Training Improves the Olfactory Sensitivity of Wine Experts. *Chemosensory Perception*, **5**, 205-213

Tempere S., Cuzange E., Malak J., Bougeant J.C., de Revel G. and Sicard G. **2011**. The training level of experts influences their ability to detect some wine key compounds. *Chemosensory Perception*, **4**, 99-115

Thomas-Danguin T. **1997**. Intensité olfactive de composés purs et de mélanges : application au masquage des odeurs. Thèse de doctorat, Université Claude- Bernard, Lyon-1

Thomas-Danguin T. and Chastrette M. **2002**. Odour intensity of binary mixtures of odorous compounds. *Comptes Rendus Biologies*, **325**, 767-772

Thomas-Danguin T., Rouby C., Sicard G., Vigouroux M., Farget V., Johanson A., Bengtson A., Hall G., Ormel W., De Graaf C., Rousseau F. and Dumont J.P. **2003**. Development of the ETOC : a European test of olfactory capabilities. *Rhinology*, **41**, 142-151

Tominaga T., Darriet P. and Dubourdieu D. **1996**. Identification de l'acétate de 3-mercaptophexanol, composé à forte odeur de buis, intervenant dans l'arôme des vins de Sauvignon. *Vitis*, **35**, 207-210

Tominaga T., Furrer A., Henry R. and Dubourdieu D. **1998a**. Identification of new volatile thiol in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines. *Flavor and Fragrance Journal*, **13**, 159-162

Tominaga T., Niclass Y., Frérot E. and Dubourdieu D. **2006**. Stereoisomeric distribution of 3-mercaptohexan-1-ol and 3-mercaptohexyl acetate in dry and sweet white wines made from *Vitis vinifera* (var. Sauvignon blanc and Semillon). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **54**, 7251-7255

Tominaga T., Peyrot des Gachons C. and Dubourdieu D. **1998b**. A New Type of Flavor Precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc : S-Cysteine Conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46 (12)**, 5215-5219

Touhara K. **2002**. Odor discrimination by G protein-coupled olfactory receptors. *Microscopy Research and Technique*, **58**, 135-141.

Trésor de la langue française. *Dictionnaire*. Paris, C.N.R.S., **2006**

Trotier D. and MacLeod P. **1986**. Intracellular recordings from salamander olfactory supporting cells. *Brain Research*, **374(2)**, 205-211

U

Ugliano M. and Moio L. **2005**. Changes in the concentration of yeast derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **53**, 10134-10139

Ugliano M. and Moio L. **2008**. Free and hydrolytically released volatile compounds of *Vitis vinifera* L. cv. Fiano grapes as odour-active constituents of Fiano wine. *Analytica Chimica Acta*, **621 (1)**, 79-85

V

Valova I., Gueorguieva N., Troescher F. and Lapteva O. **2007**. Modeling of inhibition/excitation firing in olfactory bulb through spiking neurons. *Neural Computing and Applications*, **16 (4-5)**, 355-372

Van Gemert L.J. and Nettenbreijer A.H. **1977**. Compilation of Odour Threshold Values in Air and Water; A.H., Eds.; TNO : Zeist, The Netherlands

Velle W. **1987**. Sex differences in sensory functions. *Perspectives in Biology and Medicine*, **4**, 490-523

Versini G., Dalla Serra A. and Pelligrini R. **1984**. Aspects of wine aroma attributable to carbonic maceration. *Food Science and Technology Abstracts*, **20 (10)**, 871-878

W

Walker J.C., Hall S.B., Walker D.B., Kendal-Reed M.S., Hood A.F. and Niu X.F. **2003**. Human odor detectability : new methodology used to determine threshold and variation. *Chemical Senses*, **28 (9)**, 817-826

Walker J.C., Kendal-Reed M. and Morgan W.T. **1999**. Accounting for several related sources of variation in chemosensory psychophysics. In : Bell GA, Watson A (eds) Tastes and aromas : the chemical senses in science and industry. *University of New South Wales Press*, Sydney, 105-113

Webb A.D. and Kepner R.E. **1962**. The aroma of flor sherry. *American Journal of Enology and Viticulture*, **13**, 1-14

Wood J.B. and Harkins S.W. **1987**. Effects of age, stimulus selection and retrieval environment on odour identification. *Journal of Gerontology*, **42**, 584-588

Z

Zald D.H. and Pardo J.V. **2000**. Functional neuroimaging of the olfactory system in humans. *International Journal of Psychophysiology*, **36**, 165-81

Zatorre R.J., Jones-Gotman M., Evans A.C. and Meyer E. **1992**. Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature*, **360**, 339-340

Zellner D.A. and Whitten L.A. **1999**. The effect of color intensity and appropriateness on color-induced odor enhancement. *American Journal of Psychology*, **112**, 585-604

Zou Z., Horowitz L.F., Montmayeur J.P., Snapper S. and Buck L.B. **2001**. Genetic tracing reveals a stereotyped sensory map in the olfactory cortex. *Nature*, **414**, 173-179

ANNEXES

Annexe 1 : Tests triangulaires

NOM :

Prénom :

Date :

Dégustation orthonasale uniquement

Pour chaque test, trois échantillons numérotés vous sont proposés. Deux sont identiques, le troisième est différent. Cochez pour chaque test l'échantillon que vous percevez comme différent. Donnez une réponse même si vous n'êtes pas certains.

- | | | | |
|----|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 1. | <input type="checkbox"/> 569 | <input type="checkbox"/> 376 | <input type="checkbox"/> 680 |
| 2. | <input type="checkbox"/> 126 | <input type="checkbox"/> 834 | <input type="checkbox"/> 308 |

Annexe 2 : Déterminations de seuils de perception

NOM :

Prénom :

Date :

Dégustation orthonasale uniquement

Pour chaque test, trois échantillons numérotés vous sont proposés. Deux sont identiques, le troisième est différent. Cochez pour chaque test l'échantillon que vous percevez comme différent. Donnez une réponse même si vous n'êtes pas certains.

1.	<input type="checkbox"/> 362	<input type="checkbox"/> 526	<input type="checkbox"/> 798
2.	<input type="checkbox"/> 345	<input type="checkbox"/> 954	<input type="checkbox"/> 236
3.	<input type="checkbox"/> 254	<input type="checkbox"/> 679	<input type="checkbox"/> 346
4.	<input type="checkbox"/> 856	<input type="checkbox"/> 167	<input type="checkbox"/> 573
5.	<input type="checkbox"/> 745	<input type="checkbox"/> 943	<input type="checkbox"/> 617
6.	<input type="checkbox"/> 563	<input type="checkbox"/> 649	<input type="checkbox"/> 498
7.	<input type="checkbox"/> 852	<input type="checkbox"/> 359	<input type="checkbox"/> 634
8.	<input type="checkbox"/> 654	<input type="checkbox"/> 756	<input type="checkbox"/> 816
9.	<input type="checkbox"/> 159	<input type="checkbox"/> 845	<input type="checkbox"/> 734
10.	<input type="checkbox"/> 854	<input type="checkbox"/> 365	<input type="checkbox"/> 119

Annexe 3 : Etablissement de profils sensoriels

(sur une échelle de notation structuré)

NOM :

Prénom :

Date :

Dégustation orthonasale uniquement

Veillez positionner sur les échelles ci-dessous les 3 échantillons présentés simultanément en fonction de leur intensité sur les différents descripteurs.

Fruit rouge		abs	1	2	3	4	5	6	7
	785	<input type="checkbox"/>							
	857	<input type="checkbox"/>							
	587	<input type="checkbox"/>							
Fruit noir		abs	1	2	3	4	5	6	7
	785	<input type="checkbox"/>							
	857	<input type="checkbox"/>							
	587	<input type="checkbox"/>							
Fruit frais		abs	1	2	3	4	5	6	7
	785	<input type="checkbox"/>							
	857	<input type="checkbox"/>							
	587	<input type="checkbox"/>							
Fruit confituré		abs	1	2	3	4	5	6	7
	785	<input type="checkbox"/>							
	857	<input type="checkbox"/>							
	587	<input type="checkbox"/>							

Annexe 4 : Etablissement de profils sensoriels (sur une échelle de notation non structurée)

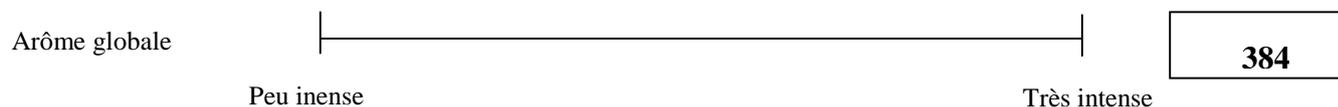
NOM :

Prénom :

Date :

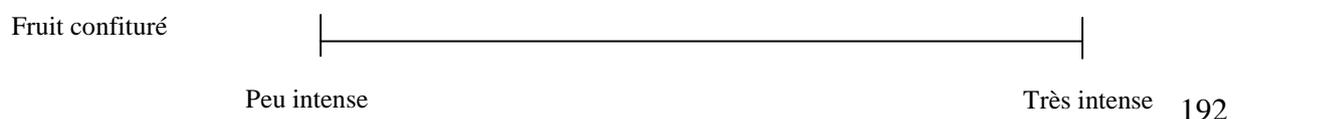
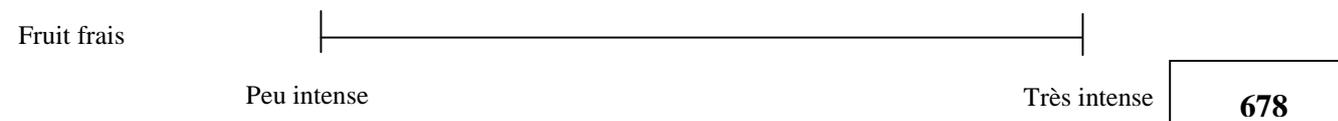
Dégustation orthonasale uniquement

Evaluer olfactivement l'intensité de chaque descripteur à l'aide de l'échelle proposée



Dégustation orthonasale uniquement

Evaluer olfactivement l'intensité de chaque descripteur à l'aide de l'échelle proposée



Annexe 5 : Etablissement de profils sensoriels

(sur une échelle de notation non structurée)

NOM :

Prénom :

Date :

Evaluer olfactivement l'intensité de chaque descripteur à l'aide de l'échelle proposée

Arôme globale	-----
	Peu intense Très intense
Fruit rouge	-----
	Peu intense Très intense
Fruit noir	-----
	Peu intense Très intense
Fruit frais	-----
	Peu intense Très intense
Fruit confituré	-----
	Peu intense Très intense

852

Annexe 6 : Table de significativité du test triangulaire

Nombre de tests réalisés	Nombres critiques		
	Seuil		
	5 %	1 %	0,1 %
5	4	5	5
6	5	6	6
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17
26	14	15	17
27	14	16	18
28	15	16	18
29	15	17	19
30	16	17	19
31	16	18	19
32	16	18	20
33	17	19	20
34	17	19	21
35	18	19	21
36	18	20	22
37	18	20	22
38	19	21	23
39	19	21	23
40	20	22	24

Nombre de réponses correctes nécessaires en fonction du nombre total d'observations pour conclure à une différence pour différents risques

Annexe 7 : Teneurs des énantiomères du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ($\mu\text{g/L}$)

VIN	millésimes	APPELLATION	Ratio énantiomérique R/S	C ($\mu\text{g/L}$)
vins rouges				
Haut-Ligat	1981	Cotes de Bourg	93/7	493
Château Dillon	1982	Haut-Médoc	89/11	634
Château Dillon	1982	Haut Médoc	95/5	315
Château Thieuley	1983	Bordeaux	87/13	379
Château Segur	1985	Haut-Médoc	87/13	275
Château Brane Cantenac	1985	Margaux	86/14	375
Château Le Souley Ste Croix	1988	Haute Médoc	98/2	368
Domaine Ollier Taillefer	1989	Faugères	97/3	531
Domaine Grande Maison	1990	Pessac-Léognan	90/10	443
Château Brane Cantenac	1990	Margaux	85/15	267
Côte Rôtie –Michel Bernard	1991	Côte Rôtie	89/11	305
Patrimonio-Michel Martini	1993	Patrimonio	97/3	486
Château Reynon	1993	Premières Cotes De Bordeaux	98/2	612
Château Reynon	1994	Premières Côtes de Bordeaux	90/10	540
Château Ségur	1995	Haut Médoc	97/3	354
Château Brane Cantenac	1995	Margaux	96/4	333
Clos Sainte Anne	1996	Premières Cotes De Bordeaux	98/2	368
Château Reynon	1999	Premières Cotes De Bordeaux	98/2	586
Imperial	2000	Cahors	98/2	323
Château Brane Cantenac	2000	Margaux	96/4	587
Château Blaignan	2003	Médoc	98/2	301
Château Reynon	2003	Premières Côtes de Bordeaux	98/2	436
Clos Les Polies	2005	Arveyres	97/3	354
Château Reynon	2005	Premières Côtes de Bordeaux	100/0	444
Château Brane Cantenac	2005	Margaux	96/4	660
Domaine Lalanne	2006	Madiran	98/2	406
Château Reynon	2006	Premières Côtes de Bordeaux	99/1	370
Château Luchey-Halde	2007	Pessac-Léognan	98/2	404

Haldes De Luchey	2007	Pessac-Léognan	98/2	380
Château Bardins	2008	Graves	99/1	358
Château Luchey-Halde	2008	Pessac-Léognan	98/2	269
Haldes De Luchey	2008	Pessac-Léognan	97/3	302
Château Luchey-Halde	2009	Pessac-Léognan	98/2	174
Haldes De Luchey	2009	Pessac-Léognan	98/2	200
Château Luchey-Halde Cabernet Sauvignon	2010	Pessac-Léognan	100/0	119
Château Luchey-Halde - Merlot	2010	Pessac-Léognan	100/0	114
Château Luchey-Halde - Petit Verdot	2010	Pessac-Léognan	100/0	127
Château Luchey-Halde- Cabernet Franc	2010	Pessac-Léognan	100/0	98
Château Brane Cantenac	2010	Margaux	100/0	217
VIEUX CARION merlot	2010	Vin de Pays d'Oc	100/0	250
Domaine des Eoliennes Merlot	2010	Vin de Pays d'Oc	100/0	220
Blaissac	2010	Bordeaux	100/0	270

VIN	millésimes	APPELLATION	ratio énantiomérique R/S	C (µg/L)
vins blancs				
Château Olivier	1989	Pessac-Léognan	100/0	827
Château Reynon	1992	Premières Côtes de Bordeaux	100/0	251
Château Reynon	1993	Premières Côtes de Bordeaux	100/0	211
Château Reynon	1994	Premières Côtes de Bordeaux	97/3	219
Domaine du Milan	1995	Pessac-Léognan	100/0	580
Château Reynon	1996	Premières Côtes de Bordeaux	100/0	166
Château Reynon	1997	Premières Côtes de Bordeaux	99/1	180
Château Reynon	1998	Premières Côtes de Bordeaux	100/0	162
Julien de Savignac	2003	Bergerac	100/0	209
Château Bardins	2008	Pessac-Léognan	100/0	366
Dourthe	2008	Bordeaux	100/0	189
Florenbelle	2010	Côtes de Gascogne	100/0	107
Château Reynon	2010	Premières Côtes de Bordeaux	100/0	197

Importance des interactions perceptives dans l'expression de l'arôme fruité typique des vins rouges

Importance of perceptive interactions on wine typical fruity aroma

Résumé

La plupart des composés volatils connus et impliqués dans les mécanismes de l'expression fruitée des vins rouges sont présents à des teneurs inférieures ou proches de leurs seuils de perception individuels. Compte tenu de phénomènes d'interactions perceptives entre eux, il est très complexe de déterminer leur impact réel sur l'arôme du vin.

Au vu des difficultés rencontrées pour reconstituer fidèlement l'arôme des vins à partir uniquement de composés purs, nous avons développé une méthodologie permettant d'aborder cette reconstitution aromatique à partir de fractions issues du vin lui-même, afin de pouvoir évaluer l'importance relative de ces différentes fractions aromatiques vis-à-vis de l'arôme global du vin.

Grâce à l'analyse sensorielle, et en s'attachant à quelques descripteurs particuliers, nous avons pu mettre en évidence, quelques interactions perceptives particulières comme des effets de contributions marquées ou de masquage. La caractérisation des composés présents dans les fractions concernées et à l'origine de ces effets notables a été mise en œuvre.

Nos résultats soulignent le rôle indirect du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle, un ester éthylique élué dans la fraction à l'origine d'une contribution marquée aux notes de fruits noirs frais qui, en provoquant la diminution du "seuil de perception" du pool fruité des vins rouges et l'augmentation de l'intensité de leurs notes de fruits noirs et de fruits frais, agit comme un exhausteur naturel de ces notes fruitées.

Nous sommes aussi parvenus à mettre en évidence, le rôle direct du diacétyl, mais aussi le rôle indirect de l'acétoïne, de l'acide acétique et de la γ -butyrolactone, malgré leurs concentrations infraliminaires, sur la diminution de l'intensité globale et l'intensité du caractère de fruits frais. Ces résultats soulignent leur fort caractère, seuls ou en mélanges, de "réducteurs" de l'intensité de ces notes, et ce, même à des concentrations infraliminaires.

Enfin, le comportement particulier, au sein d'un mélange fruité, du 3-hydroxybutanoate d'éthyle, de l'acétate de 2-méthylpropyle, du propanoate d'éthyle et de l'acétate de butyle, présents à des concentrations infraliminaires a été mis en évidence. La présence en mélange des deux premiers provoque la baisse notable du "seuil de perception" du pool fruité et celle des trois derniers augmente l'intensité des notes de fruits frais et fruits noirs traduisant l'effet exhausteur d'arômes dû à ces composés, effet comparable de celui du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle qui présente quelques analogies structurales avec ces composés.

Mots clés : vin rouge, arôme fruité, interactions perceptives, esters, reconstitutions aromatiques, effet exhausteur, effet masquage, mélanges complexes.

Abstract

Most of volatiles involved in red wines' fruity expression are present at levels below or close to their individual perception thresholds. Given the existence of perceptive interactions between them, it is very difficult to determine their real impact on wine aroma.

Rather than assessing the olfactive behavior of mixtures prepared from pure products, the main goal of this work was to highlight and study the impact of perceptive interactions on wine fruity aroma expression using various aromatic reconstitutions prepared from wine fractions.

Sensory profile analyses identified significant differences among aromatic reconstitutions for the intensity of some descriptors, as particular "additive" or "masking" effects. The composition of the involved fractions was then studied by instrumental methods. The final target was to investigate the impact of fraction components on fruity aroma by preparing aromatic reconstitutions and using sensory reconstitution tests, to assess the role of these compounds on the perceptive interactions previously observed.

Further analysis revealed that ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate, eluted in fraction which had an "additive" effect on the black-berry and fresh fruity aroma, does not play a direct role as a key compound in red wine aroma. In contrast, our findings highlighted its indirect contribution to wine aroma, showing that this ester contributed to a synergistic effect, enhancing the perception of fruity character. Finally, it was clearly demonstrated that this compound acts as a natural enhancer for black-berry and fresh fruit notes in red wine.

It was also established that diacetyl, acetoin, acetic acid and γ -butyrolactone together played the same hypo-additive role as fractions of which they were eluted, presenting a "masking" effect on fresh fruity aroma. The impact of the last three compounds was demonstrated conclusively, even at subthreshold concentrations. These findings highlighted the existence of new remarkable perceptual interactions impacting overall and fresh-fruit aroma perception.

The particular behavior, in a fruity mixture, of ethyl-propanoate, ethyl-3-hydroxybutanoate, butyl acetate and 2-methylpropyl acetate, present at subthreshold concentrations, was demonstrated. The presence of ethyl-3-hydroxybutanoate and 2-methylpropyl acetate in mixture led to a significant decrease of the olfactory threshold of fruity pool confirming their synergistic effect in the overall increase intensity. These compounds with close chemical structures, participate, both quantitatively and qualitatively, in the modulation of red wines' fruity aromas acting as natural enhancers of black-berry and fresh-fruit aromas.

Keywords : red wine, fruity aroma, perceptive interactions, aromatic reconstitutions, aroma enhancer/suppressor, complex mixtures.