

Université Bordeaux Segalen

Année 2013

Thèse n°2132

THESE

pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX II

Mention : Sciences, Technologie, Santé

Option : Œnologie

Présentée et soutenue publiquement le 19 Décembre 2013

par

Panagiotis STAMATOPOULOS

Né le 01 Avril 1980 à Kiato, Grèce

**CARACTERISATION DES COMPOSES IMPLIQUES PAR DES
PHENOMENES D'INTERACTIONS PERCEPTIVES DANS LES
NUANCES FRUITEES DE L'AROME DES VINS LIQUOREUX**

Membres du Jury

M. D. DUBOURDIEU	Professeur, Université Bordeaux Segalen, France	Président
Mme. A. BUETTNER	Professeur, Université d'Erlangen, Allemagne	Rapporteur
M. D. THIÉBAUT	Chargé de Recherche, CNRS-ESPCI-Paris Tech, France	Rapporteur
M. E. SOUFLEROS	Professeur, Université Aristote de Thessalonique, Grèce	Examineur
M. E. FRÉROT	Principal Scientist, Société Firmenich SA, Suisse	Examineur
M. P. DARRIET	Professeur, Université Bordeaux Segalen, France	Directeur de Thèse

Στην Οικογένεια μου

Γιώργο-Ευαnθία

Σωτηρία-Χρήστο-Αθανασία

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Œnologie Générale de la Faculté d'Œnologie de Bordeaux, sous la direction du Professeur Philippe Darriet. Je le remercie de m'avoir confié ce sujet passionnant. Sa confiance et ses encouragements ont été déterminants dans l'accomplissement de ce travail ainsi que dans l'enthousiasme qui a guidé ces recherches. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère et profonde reconnaissance.

Monsieur Denis Dubourdiou, Professeur de l'Université de Bordeaux et Directeur Général de l'ISVV, m'a fait l'honneur de présider ce jury de thèse et je lui en suis très reconnaissante.

J'exprime toute ma reconnaissance à Madame Andrea Buettner, Professeur de l'Université d'Erlangen, et à Monsieur Didier Thiébaud, chargé de Recherches à l'ESPCI-Paris Tech, pour avoir montré de l'intérêt pour mes travaux, d'avoir accepté de juger cette thèse et d'en être les rapporteurs.

Monsieur Eric Frérot, de la Société Firmenich, a montré un vif intérêt pour mon travail. Ses expertises dans les domaines respectifs des arômes ont grandement contribué à l'obtention des résultats majeurs de cette thèse. Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Monsieur Evangelos Soufleros, Professeur de l'Université Aristote de Thessalonique, a accepté d'évaluer ce travail et d'en fait partie de ce jury. J'en suis très honorée et le remercie vivement.

Je remercie chaleureusement Sandrine Garbay, maitre de chai au château d'Yquem, pour son grand intérêt pour mon travail. Je salue ses qualités humaines et plus particulièrement sa disponibilité et sa gentillesse. Un grand merci à monsieur Francis Mayeur, directeur technique au château d'Yquem, pour son implication dans ce travail. Merci pour les échantillons très précieux et pour m'avoir fait découvrir la magie de la pourriture noble.

Ce travail de recherche a été soutenu financièrement par le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux et le Conseil Régional d'Aquitaine, auxquels j'exprime toute ma reconnaissance.

Je remercie toute l'équipe du Laboratoire d'Œnologie Générale qui m'a aidée et soutenue. J'adresse des remerciements particuliers à Cécile Thibon et Alexandre Pons pour leur présence, leurs conseils, et leur disponibilité quotidienne. De même, merci à Maxime Brette, Axel Marchal, Armin Schüttler et Kentaro Shinoda pour leur aide et leur soutien tout au long de ces trois années de recherches et pour leurs nombreux conseils techniques et leur bonne humeur.

Ma profonde reconnaissance et mon amitié vont à Sophie Tempère. Tes compétences sur le domaine d'analyse sensorielle m'ont beaucoup aidé lors de la réalisation de ce travail mais aussi de voir de manière différent l'arôme du vin.

Mes remerciements vont aussi à Monique Pons pour son aide et son accueil au début de ces années de recherches et à Pascaline Redon d'être arrivée « à temps », de m'avoir supporté et tant aidé au cours de cette dernière année.

Lucile Allamy, Romain Jean-Pierre, Romain Haize et Maude Tinot ont consacré du temps de leurs études pour l'avancement de cette étude. Je leur en suis très reconnaissant.

Je tiens à remercier aussi « John » Laurent Pechamat, Caroline Bocker et Xavier Poitou pour leur aide précieuse lors de la rédaction de cette thèse. Merci pour votre disponibilité et votre soutien au cours de cette période.

Merci à Warren Albertin pour ses compétences sur le domaine de statistiques et à Christian Poupot pour son aide.

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.

Enfin, je n'oublie pas l'ensemble des participants aux différents panels d'analyse sensorielle, sans qui ce travail n'aurait pas abouti. Qu'ils soient remerciés pour leur enthousiasme et leur disponibilité.

Για το τέλος.....

Γιούλη μου πραγματικά δεν έχω τις λέξεις για να περιγράψω το πόσο πολύ μου στάθηκες αυτά τα χρόνια. Ένα μεγάλο ευχαριστώ, για την αμέριστη συμπαράσταση, για την υπομονή σου καθώς επίσης για της συμβουλές και της υποδείξεις σου.

Obrigado ao Guilherme, merci pour ton amitié, pour ton poulet au curry, pour tout.....

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια της οδού Foy. Κλεοπάτρα, Κλεοπατρίτσα και Guillaume. Σας ευχαριστώ για την καθημερινή σας παρέα και την υποστήριξη σας όλα αυτά τα χρόνια.

Θα ήθελα να αναφερθώ και να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που μου στάθηκαν και με πίστεψαν αυτά τα χρόνια. Ευχαριστώ Νίκο, Τάκη, Κώστα ΡΟ, Βλάση, Δημήτρη, Τζου, Πέτρο, Τίνα, Σια, Ντίνα.

SOMMAIRE

1	INTRODUCTION GENERALE.....	1
2	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	5
2.1	LE RAISIN PARASITE PAR <i>BOTRYTIS CINEREA</i>	6
2.2	LA POURRITURE NOBLE.....	7
2.3	LA CONSTITUTION DE MOUTS PROVENANT DES RAISINS ATTEINTS PAR LA POURRITURE NOBLE	9
2.4	LA VINIFICATION DES VINS LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE	10
2.4.1	<i>Les difficultés de la fermentation</i>	10
2.4.2	<i>L'arrêt de la fermentation (mutage)</i>	12
2.5	NOTION DE LA TYPICITE.....	12
2.6	LA COMPOSITION AROMATIQUE DES VINS DE POURRITURE NOBLE	15
2.6.1	<i>Introduction</i>	15
2.6.2	<i>L'arôme des vins de Pourriture noble</i>	15
2.6.2.1	Les thiols volatils	16
2.6.2.2	Les lactones	19
2.6.2.3	Les furanones.....	23
2.6.2.4	Les aldéhydes : méthional et phénylacétaldéhyde	24
2.6.2.5	Les esters	25
2.7	L'ANALYSE PAR CPG-OLFACTOMETRIE	27
2.7.1	<i>Contexte général de l'analyse CPG-olfactométrique</i>	27
2.7.2	<i>Les différentes méthodes d'analyse par CPG-olfactométrie</i>	28
2.7.2.1	Les méthodes des dilutions	28
2.7.2.2	La méthode de fréquences de détection	30
2.7.2.3	La méthode post-intensité.....	30
2.7.2.4	Les méthodes temps-intensité.....	31
2.7.3	<i>Les nouvelles applications instrumentales</i>	31
2.7.3.1	La technique de CPG-préparative.....	32
2.7.3.2	L'application de la CLHP-semi-préparative au fractionnement d'extraits de vins	33
2.8	ANALYSE SENSORIELLE.....	34
2.8.1	<i>Introduction</i>	34
2.8.2	<i>Les épreuves sensorielles</i>	35
2.8.2.1	Epreuves discriminatives	35
2.8.2.2	Epreuves descriptives	35
2.8.2.3	Les épreuves hédoniques	36
2.8.3	<i>Les facteurs conditionnant les résultats d'une analyse sensorielle</i>	36
2.9	INTERACTIONS PERCEPTIVES	37
2.9.1	<i>Introduction</i>	37
2.9.2	<i>Exemples d'interactions perceptives dans le vin</i>	38

3	MATERIELS & METHODES	42
3.1	ANALYSES INSTRUMENTALES.....	43
3.1.1	Vins utilisés	43
3.1.2	Produits chimiques employés.....	43
3.1.3	Techniques d'extraction	44
3.1.3.1	Extraction non-sélective de composés odorants	44
3.1.3.1.1	Utilisation de l'extrait pour les analyses en CPG-O, pCPG-O et CLHP-semi préparative	44
3.1.3.1.2	Dosage d'aldéhydes (méthional, phénylacétaldéhyde) et furanones (furanéol®, homofuranéol, norfuranéol).....	44
3.1.3.2	Extraction sélective de thiols volatils.....	45
3.1.3.3	Extraction sélective de lactones.....	45
3.1.3.3.1	A partir de moût.....	45
3.1.3.3.2	A partir de vin (Ferreira et al., 2004).....	46
3.1.4	Fractionnement des extraits organiques par chromatographie liquide haute performance	46
3.1.4.1	Extraction des fractions	47
3.1.5	Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O)	47
3.1.6	Chromatographie en phase gazeuse préparative couplée à l'olfactométrie (pCPG-O).....	48
3.1.7	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).....	49
3.1.8	Indices linaires de rétention	49
3.1.9	Chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse et à un mode de détection olfactométrique (MDCPG-SM-O).....	50
3.1.10	La quantification des composés volatils par CPG-SM.....	51
3.1.11	Dosage du 2-nonen-4-olide dans les moûts et les vins	53
3.1.12	Synthèse du 2-nonen-4-olide (réalisée par le groupe du Dr Fabrice Robvieux, Firmenich, Genève, Suisse).....	54
3.2	ANALYSE SENSORIELLE	55
3.2.1	Conditions et paramètres généraux	55
3.2.1.1	Panel.....	55
3.2.1.2	Environnement.....	55
3.2.1.3	Verres	56
3.2.2	Réalisation des reconstitutions aromatiques	56
3.2.2.1	Fractions obtenues par CLHP.....	56
3.2.2.1.1	Préparation des fractions	56
3.2.2.1.2	Sélection des fractions.....	56
3.2.2.2	Mise en œuvre des reconstitutions aromatiques dans différents matrices	56
3.2.3	Epreuves d'analyse sensorielle et interprétation statistique des résultats	57
3.2.3.1	Epreuves discriminatives	57
3.2.3.1.1	Tests triangulaires à partir de reconstitutions aromatiques.....	57
3.2.3.1.2	Tests triangulaires à partir de fractions collectés par pCPG-O.....	58
3.2.3.1.3	Traitement statistique des différents tests triangulaires.....	59
3.2.3.1.4	Détermination de seuil de perception	60
3.2.4	Epreuves descriptives.....	61

3.2.4.1	Description olfactive.....	61
3.2.4.2	Etablissement de profils sensoriels.....	61
3.3	EXPÉRIMENTATIONS ŒNOLOGIQUES.....	70
4	FRACTIONNEMENT D'EXTRAITS DE VINS LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE DE LA REGION BORDELAISE	72
4.1	MISE EN EVIDENCE DE FRACTIONS EVOQUANT DES NUANCES AROMATIQUES DE « FRUITS CONFITS » PAR CLHP SEMI PREPARATIVE.....	73
4.1.1	<i>Introduction.....</i>	73
4.1.2	<i>Description olfactive des vins et des fractions associées obtenues par CLHP d'extraits bruts.....</i>	74
4.1.3	<i>Analyses sensorielles préliminaires.....</i>	78
4.1.3.1	Modalités expérimentales.....	78
4.1.3.2	Validation sensorielle de la contribution de certaines fractions de CLHP à des nuances typiques de l'arôme des vins liquoreux.....	79
4.1.3.2.1	Tests triangulaires.....	79
4.1.3.2.2	Tests descriptifs.....	80
4.2	RECHERCHE DE ZONES ODORANTES PAR CPG-O ASSOCIEES AUX NUANCES « D'ORANGE CONFITE » DANS DES EXTRAITS DE VIN LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE	81
4.2.1	<i>Analyse d'extraits de vins liquoreux correspondant aux fractions 37 et 38.....</i>	81
4.2.2	<i>Analyse d'extraits bruts de vins liquoreux.....</i>	83
4.3	DISCUSSION-CONCLUSION	84
5	MISE AU POINT D'UNE METHODE DE FRACTIONNEMENT ET DE RECOMBINAISON DE L'AROME DU VIN PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE PREPARATIVE (PCPG-O).....	86
5.1	INTRODUCTION	87
5.2	INTERET DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE PREPARATIVE (PCPG-O).....	88
5.2.1	<i>Développement de la méthode.....</i>	88
5.2.1.1	Impact de la température de piégeage.....	88
5.2.1.2	Incidence du type du composé piégé.....	90
5.2.1.3	Analyse de la sélectivité du piégeage d'un composé volatil dans un mélange.....	91
5.2.2	<i>Application de la méthode de la Chromatographie en phase Gazeuse préparative (pCPG-O) à la mise en évidence d'une fraction odorante rappelant l'orange dans les extraits de vins liquoreux.....</i>	93
5.2.2.1	Analyse de la fraction 37 d'un vin liquoreux de pourriture noble obtenue par CLHP semi préparative.....	93
5.2.2.2	Analyse d'un extrait brut de vin liquoreux de pourriture noble.....	96
5.2.2.3	Comparaison de la fraction « orange confite » entre un vin liquoreux « typé » et « non-typé ».....	98
5.3	DISCUSSION-CONCLUSION	100

**6 CARACTERISATION DE COMPOSES ASSOCIES A DES NOTES DE « FRUITS CONFITS »
DANS DES EXTRAITS DE VINS LIQUEUREUX - ROLE PARTICULIER DU 2-NONEN-4-OLIDE... 101**

6.1	INTRODUCTION	102
6.2	IDENTIFICATION PAR MDCPG-O-SM DE COMPOSES VOLATILS ASSOCIES AUX FRACTIONS CLHP 37 ET 38, OBTENUS A PARTIR D'EXTRAITS DE VINS LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE	102
6.2.1	<i>Analyse de la fraction 37 et de la fraction 38 à partir des différents extraits de vins liqueureux de pourriture noble.....</i>	103
6.2.1.1	Analyse de la fraction 37	103
6.2.1.2	Analyse de la fraction 38	107
6.3	ETUDE DES PROPRIETES SENSORIELLES DU 2-NONEN-4-OLIDE ET DOSAGE DES COMPOSES ASSOCIES A L'AROME DE « FRUITS CONFITS » DANS LES VINS LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE	108
6.3.1	<i>Détermination du seuil de perception olfactive du 2-nonen-4-olide</i>	108
6.3.2	<i>Dosage des Lactones et de l'Eugénol. Mise au point et validation d'une méthode de dosage du 2-nonen-4-olide dans les vins</i>	110
6.3.2.1	Dosages des lactones et de l'eugénol	110
6.3.2.2	Mise au point d'une méthode de dosage du 2-nonen-4-olide.....	111
6.3.3	<i>Quantification des Lactones et de l'Eugénol dans différents vins blanc</i>	112
6.3.3.1	Quantification de la nouvelle lactone 2-nonen-4-olide.....	112
6.3.3.2	Quantification des lactones et d'eugénol.....	113
6.4	DISCUSSION-CONCLUSION	115

**7 MISE EN EVIDENCE DE PHENOMENES D'INTERACTIONS PERCEPTIVES A PARTIR DE
FRACTIONS D'EXTRAITS DE VINS LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE..... 116**

7.1	INTRODUCTION	117
7.2	EXPERIENCES DE RECONSTITUTION AROMATIQUE ET D'OMISSION AVEC DES FRACTIONS ISSUES DE VINS LIQUEUREUX TYPES ET NON TYPES	118
7.2.1	<i>Quantification des composés d'intérêt dans certains fractions de vins liquoreux</i>	119
7.2.2	<i>Expériences sensorielles de reconstitution et d'omission.....</i>	120
7.2.2.1	Cas d'un vin liquoreux de pourriture noble typé.....	120
7.2.2.2	Cas d'un vin liquoreux de pourriture noble non typé.....	125
7.2.2.3	Cas d'un mélange d'extrait de vin non typé (matrice non typée) et de composés d'intérêt aux concentrations dosées dans un vin typé.....	128
7.3	EXPERIENCES DE RECONSTITUTION AROMATIQUE EN SOLUTION MODELE. L'ETUDE DE L'ACCORD AROMATIQUE D'ORANGE CONFITE DANS LES VINS LIQUEUREUX DE POURRITURE NOBLE.....	133
7.3.1	<i>Expériences de reconstitution et d'omission de l'arôme d'orange confite.</i>	135
7.3.1.1	Etude préliminaire (ajout des composés seuls)	135
7.3.1.2	Cas de reconstitution en considérant les concentrations d'un vin typé, mélange VT	136
7.3.1.3	Cas de reconstitution aromatique en considérant les concentrations d'un vin non typé (mélange VNT).....	139
7.3.2	<i>Etude sur la contribution de différents marqueurs moléculaires à la perception de l'accord aromatique rappelant l'orange confite</i>	141
7.3.2.1	Etude du 3-Sulfanylhéxanol (3SH).....	141

7.3.2.2	Etude de la Massoia Lactone.....	145
7.3.2.3	Etude du Nonanal.....	149
7.3.3	<i>Etude concernant l'appréciation du niveau de typicité dans le cas des mélanges</i>	151
7.4	DISCUSSION-CONCLUSION	154

8 CORRELATION ENTRE COMPOSANTS CLES DE L'AROME DES VINS LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE ET APPRECIATION SENSORIELLE..... 157

8.1	ANALYSE QUANTITATIVE DES COMPOSES AROMATIQUES CLES DES VINS DE POURRITURE NOBLE ET APPRECIATION SENSORIELLE.....	158
8.1.1	<i>Introduction</i>	158
8.1.2	<i>Analyse des Lactones</i>	159
8.1.2.1	Protocole expérimental	159
8.1.2.2	Contribution des lactones associées au développement de <i>Botrytis cinerea</i>	159
8.1.2.3	Contribution des lactones du bois et de l'eugénol.....	163
8.1.3	<i>Analyse des Furanones</i>	166
8.1.3.1	Quantification des Furanones	166
8.1.3.2	Analyse quantitative des furanones dans les vins	166
8.1.4	<i>Etude des aldéhydes de Strecker (Méthional et Phénylacétaldéhyde)</i>	168
8.1.4.1	Quantification des aldéhydes de Strecker.....	168
8.1.4.2	Analyse quantitatives des aldéhydes de Strecker dans les vins.....	168
8.1.5	<i>Etude du 3-sulfanylhexanol</i>	170
8.1.5.1	Quantification du 3-sulfanylhexanol.....	170
8.1.6	<i>Analyses quantitatives du 3-sulfanylhexanol</i>	171
8.1.7	<i>Analyses Sensorielles</i>	172
8.1.7.1	Profils sensoriels	172
8.1.7.2	Corrélation entre les différents constituants aromatiques et l'analyse sensorielle	176
8.2	ETUDE COMPARATIVE DE LA COMPOSITION AROMATIQUE DU MEME VIN ISSU D'UN ELEVAGE EN BARRIQUES OU EN CUVE D'ACIER INOXYDABLE	178
8.2.1	<i>Introduction</i>	178
8.2.2	<i>Protocole expérimentale</i>	179
8.2.2.1	Étude sur la composante aromatique	179
8.2.3	<i>Analyse Sensorielle comparative entre les modalités Barrique-Inox</i>	182
8.2.3.1	Modalités expérimentales	182
8.2.3.2	Résultats	182
8.3	DISCUSSION-CONCLUSION	184

9 APPLICATIONS TECHNOLOGIQUES. ETUDE DE LA GENESE DU 2-NONEN-4-OLIDE EN LIEN AVEC DEVELOPPEMENT DE LA POURRITURE NOBLE DES RAISINS ET SELON LES MODALITES D'ELEVAGE DES VINS..... 186

9.1	INFLUENCE DU DEVELOPPEMENT DE LA POURRITURE NOBLE DANS LA GENESE DE LACTONES	187
9.1.1	<i>Introduction</i>	187
9.1.2	<i>Modalités expérimentales</i>	187
9.2	ANALYSE DES CONCENTRATIONS EN LACTONES AU COURS DE LA BOTRYTISATION DES RAISINS ..	189

9.2.1	<i>Analyses des jus de raisins</i>	189
9.2.2	<i>Analyses des vins</i>	192
9.3	EVOLUTION DES CONCENTRATIONS EN 2-NONEN-4-OLIDE AU COURS DE L'ELEVAGE DES VINS....	195
9.3.1	<i>Protocole expérimental</i>	195
9.3.2	<i>Evolution des concentrations en 2-nonen-4-olide au cours d'élevage</i>	196
9.4	DISCUSSION-CONCLUSION	198
10	CONCLUSION GENERALE	201
11	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	206
12	ANNEXES	234

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de principaux thiols identifiés dans les vins de pourriture noble (Darriet et al., 1995 ; Tominaga et al., 2000 ; Sarrazin et al., 2007b)	18
Figure 2 : Principales lactones identifiées dans les vins de pourriture noble (Genovese et al., 2007 ; Sarrazin, 2007).....	22
Figure 3 : Composés furaniques responsables des notes « sucre cuit » dans les vins de pourriture noble (Sarrazin et al., 2007a).....	24
Figure 4 : Composés cités pour leur contribution aux notes miellées dans des vins liquoreux de pourriture noble (Sarrazin et al., 2007a, 2008).....	25
Figure 5 : Différents esters présents dans les vins de pourriture noble (Sarrazin, 2007).....	27
Figure 6 : Le dispositif de piégeage cryogénique	48
Figure 7 : Opérations de suivi de vinification expérimentale	70
Figure 8 : Taux de récupération de δ -dodécylactone pour différentes températures de piégeage cryogénique en sortie de colonne capillaire.....	89
Figure 9 : Taux de récupération du phénylacétaldéhyde pour différentes températures de piégeage cryogénique en sortie de colonne capillaire	89
Figure 10 : Taux de récupération pour les différents composés après leur injection en pCPG.....	90
Figure 11 : Chromatogramme par CPG-SM obtenu à partir du piégeage complet des composés en mélange	91
Figure 12 : Chromatogramme obtenu à partir du piégeage du phénylacétaldéhyde.....	92
Figure 13 : Focus du chromatogramme obtenu à partir d'un piégeage complet des 5 composés volatils (tracé vert) et du piégeage d'un seul composé (phénylacétaldéhyde, tracé noir).....	93
Figure 14 : Descripteurs utilisés par le panel pour les fractions pCPG-O à partir de l'extrait de la fraction 37 ...	95
Figure 15 : Descripteurs utilisés par le panel pour les fractions pCPG-O à partir de l'extrait de la fraction 37 ...	96
Figure 16 : Descripteurs cités par le panel pour les fractions pCPG-O à partir de l'extrait brut.....	98
Figure 17 : Chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne BP20 (polaire) de la fraction 37, d'un vin liquoreux de pourriture noble, par CPG multidimensionnelle (A). Focus sur chromatogramme A et mise en évidence des pics chromatographiques correspondant aux zones odorantes (B)	104
Figure 18 : Chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne BP1 (apolaire) de la fraction 37, d'un vin liquoreux de pourriture noble, par CPG multidimensionnelle (A). Focus sur la partie du chromatographe avec la zone odorante correspondant à un composé inconnu (B).....	105
Figure 19: Structure chimique et spectres de masse du 2-nonen-4-olide obtenus à partir d'un extrait de vin et par l'analyse du produit de synthèse.....	106
Figure 20 : Chromatogrammes obtenus suite à l'analyse sur une colonne BP1 de la fraction 37, d'un vin liquoreux (vert) et d'un vin blanc sec du même cépage (noir) par CPG multidimensionnelle (précolonne HP5)	107
Figure 21 : Focus du chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne BP20 de la fraction 38, d'un vin liquoreux de pourriture noble, par CPG multidimensionnelle	108

Figure 22 : Courbes sigmoïdales pour les calculs de seuils de perception olfactive en solution modèle et dans un vin liquoreux	109
Figure 23 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité (exemple de vin typé).....	121
Figure 24 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité en deux sessions différentes (exemple de vin typé)	122
Figure 25 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité lors de tests d'omission dans deux sessions différentes (exemple de vin typé)	124
Figure 26 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et du niveau de typicité (exemple de vin non-typé)	126
Figure 27 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité (exemple de vin non-typé).....	127
Figure 28 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité lors de tests d'omission (exemple de vin non-typé).....	128
Figure 29 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité (exemple du mélange).....	129
Figure 30 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité dans deux sessions différentes (exemple du mélange).....	130
Figure 31 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité lors de tests d'omission dans deux sessions différentes (exemple du mélange)	132
Figure 32 : Pourcentage d'utilisation de chaque composé sur le mélange typé (VT) et non typé (VNT).....	134
Figure 33 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale.....	135
Figure 34 : Intensité moyenne de l'odeur d'orange confite à partir des composés purs.....	136
Figure 35 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse des Composante Principale (session mélange typé, VT).....	137
Figure 36 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des composés purs (cas du mélange typé) .	138
Figure 37 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (session mélange VNT).....	139
Figure 38 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des composés purs (cas du mélange non typé)	140
Figure 39 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (effet de 3SH)	142
Figure 40 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon leur intensité d'orange confite (effet de 3SH) (WL : whisky lactone, N : 2-nonen-4-olide, GN : γ -nonalactone, E : eugénol)	143
Figure 41 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des mélanges de composés purs sans et avec ajout de 3SH ; * : différence significative entre les échantillons ($p \leq 0.05$)	144
Figure 42 : Structure de la massoia lactone.....	145
Figure 43 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (effet de la massoia lactone)	146
Figure 44 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon leur intensité d'orange confite (effet de la massoia lactone) (WL : whisky lactone, N : 2-nonen-4-olide, GN : γ -nonalactone, E : eugénol)	147

Figure 45 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des mélanges de composés purs sans et avec l'ajout de la massoia lactone ; * : différence significative entre les échantillons ($p \leq 0.05$).....	148
Figure 46 : Structure du Nonanal.....	149
Figure 47 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (effet du Nonanal).....	149
Figure 48 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon leur intensité d'orange confite (effet du Nonanal) (Non : Nonanal, WL : whisky lactone, N : 2-nonen-4-olide, GN : γ -nonalactone, E : eugénol).....	150
Figure 49 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des mélanges de composés purs sans et avec l'ajout de nonanal.....	151
Figure 50 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (niveau de la Typicité).....	152
Figure 51 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon niveau de typicité.....	153
Figure 52 : Corrélation entre l'intensité de l'arôme d'orange confite et le niveau de typicité des mélanges.....	154
Figure 53 : Concentrations de différentes lactones ($\mu\text{g/L}$) dans des vins blanc secs élaborés à partir de raisins atteints par la pourriture et liquoreux.....	160
Figure 54 : Concentrations de la massoia lactone et le 2-nonen-4-olide ($\mu\text{g/L}$) dans des vins différents.....	162
Figure 55 : Concentrations des isomères du 3-méthyl-4-octanolide et de l'eugénol dans des vins différents ($\mu\text{g/L}$).....	163
Figure 56 : Concentrations en $\mu\text{g/L}$ des 3(2H)-furanones dans différents vins.....	167
Figure 57 : Concentrations en $\mu\text{g/L}$ des aldéhydes de Strecker dans différents vins.....	170
Figure 58 : Résultats des notations de profil sensoriel pour les différents vins.....	173
Figure 59 : Notation sur le niveau de typicité pour les différents vins.....	174
Figure 60 : Corrélation entre le niveau de typicité et l'arôme de fruits confits pour les vins considérés au cours de l'étude.....	175
Figure 61 : Analyse de la corrélation entre le niveau de typicité et l'arôme de fruits confits pour différents vins associés à plusieurs expérimentations sensorielles.....	176
Figure 62 : Illustration des variables par Analyse de Composantes Principales.....	177
Figure 63 : Illustration des individus (vins) en corrélation avec les différents descripteurs par Analyse en Composantes Principales.....	178
Figure 64 : Notes moyennes des descripteurs en fonction de la modalité d'élevage ; * : différence significative ($p < 0,01$).....	183
Figure 65 : Profils des fosses pédologiques pour la parcelle 44.2 (à gauche) et la parcelle 51 (à droite).....	188
Figure 66 : Evolution des teneurs en lactones dans les jus de raisins des deux parcelles en fonction du stade de botrytisation.....	191
Figure 67 : Evolution de la teneur en 2-nonen-4-olide des vins de Sémillon (millésime 2011) au cours de l'élevage en barriques.....	197
Figure 68 : Mécanisme de formation du 2-nonen-4-olide à partir de l'acide linoléique dans les cellules de concombre.....	199

Figure 69 : (A) Voie de formation de la γ -nonalactone dans la bière (Tressl et al., 1978). (B) voie hypothétique de formation du 2-nonen-4-olide dans le vin. 200

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Distribution énantiomérique des γ -lactones dans quelques fruits	20
Tableau 2 : Descripteurs de différentes formes énantiomères de γ -lactones	20
Tableau 3 : Ions utilisés pour la détection et la quantification, coefficient de différents composés dosés	53
Tableau 4 : Tests triangulaires effectués en utilisant diverses reconstitutions aromatiques (RA).....	58
Tableau 5 : Tests triangulaires effectués en utilisant diverses fractions obtenues par CPG préparative.....	59
Tableau 6 : Composition des échantillons présentés pour la détermination de seuils de perception.....	60
Tableau 7 : Différents fractions présentées lors des analyses descriptives	61
Tableau 8 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA)	62
Tableau 9 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA) dans deux matrices différentes	65
Tableau 10 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omission réalisés	66
Tableau 11 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omissions réalisés (effet du 3SH).....	67
Tableau 12 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omission réalisés (effet du Nonanal)	68
Tableau 13 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omission réalisés (effet de la Massoia Lactone).....	69
Tableau 14: Description des fractions obtenues par CLHP des deux vins correspondants. Exemple numéro 1 ..	75
Tableau 15 : Description des fractions obtenues par CLHP des deux vins correspondants. Exemple numéro 2 ..	76
Tableau 16 : Description des fractions obtenues par CLHP des deux vins correspondants. Exemple numéro 3 ..	77
Tableau 17 : Résultats des tests triangulaires à partir des reconstitutions aromatiques	79
Tableau 18 : Reconstitutions aromatiques en solution hydro alcoolique. Mesure du niveau d'intensité moyenne (moyenne \pm écart type ; note/6) des descripteurs considérés.....	80
Tableau 19 : Reconstitution aromatique en vin « désaromatisé ». Mesure d'intensité moyenne (moyenne \pm écart type ; note /6) des descripteurs considérés	81
Tableau 20 : Zones odorantes détectées par CPG-O dans des extraits organiques de la fraction 37 et 38 de vin liquoreux (colonne HP5)	82
Tableau 21 : Zones odorantes détectées par CPG-O dans un extrait organique de vin liquoreux sur colonne HP5	83
Tableau 22 : Résultats des tests triangulaires à partir des fractions pCPG-O préparées (extrait fraction 37)	94
Tableau 23 : Résultats des tests triangulaires effectués à partir des fractions pCPG-O (extrait brut)	97
Tableau 24 : Résultats des tests triangulaires à partir des fractions pCPG-O effectuées (fraction 37, vin typé et vin non typé).....	99
Tableau 25 : Descripteurs utilisés pour les fractions pCPG-O préparées (fraction 37, vin type et vin non typé) .	99
Tableau 26 : Seuil de perception olfactive ($\mu\text{g/L}$) du 2-nonen-4-olide déterminés par le panel de l'ISVV (15 personnes)	109
Tableau 27 : Paramètres de la courbe de calibration de l'eugénol	110
Tableau 28 : Paramètres de la courbe de calibration de 2-nonen-4-olide.	111

Tableau 29 : Quantification de la lactone 2-nonen-4-olide ($\mu\text{g/L}$) dans des vins liquoreux et vins blancs secs de différents millésimes (2001-2011).....	112
Tableau 30 : Quantification des lactones et de l'eugénol ($\mu\text{g/L}$) dans les vins liquoreux	114
Tableau 31 : Quantification des composés d'intérêt dans les fractions 37 et 38 de deux types de vins liquoreux ($\mu\text{g/L}$; moyenne \pm écart type)	119
Tableau 32 : Concentrations ajoutées des composées impliquées en $\mu\text{g/L}$ lors de réalisation de différents tests sensoriels.....	134
Tableau 33 : Concentration moyenne en lactones ($\mu\text{g/L}$) dans des vins différents	161
Tableau 34 : Concentration en $\mu\text{g/L}$ des isomères du 3-méthyl-4-octanolide et de l'eugénol dans des vins différents	165
Tableau 35 : Concentration en $\mu\text{g/L}$ des 3(2H)-furanones dans des vins différents.....	167
Tableau 36 : Concentration en $\mu\text{g/L}$ des aldéhydes de Strecker dans des vins différents.....	169
Tableau 37 : Concentration en $\mu\text{g/L}$ du 3-Sulfanylhexanol dans différents vins	171
Tableau 38 : Caractéristiques physico chimiques des vins issus du lot18 en fin de fermentation alcoolique	180
Tableau 39 : Concentration des lactones en $\mu\text{g/L}$ dans les modalités Barriques (Bq) et Inox (In).....	181
Tableau 40 : Concentration des composés aromatiques en $\mu\text{g/L}$ dans les modalités Barriques (Bq) et Inox (In).....	181
Tableau 41 : Caractéristiques des analyses œnologiques des moûts prélevés.....	189
Tableau 42 : Quantification des différentes Lactones ($\mu\text{g/L}$) dans les moûts en fonction des différents stades de botrytisation.....	190
Tableau 43 : Caractéristiques physico chimiques des vins associés à des différents stades de botrytisation.....	193
Tableau 44 : Quantification des différentes lactones ($\mu\text{g/L}$) dans les vins en fonction des différents stades de botrytisation.....	193
Tableau 45 : Caractéristiques physico-chimiques des vins issus de différents lots.....	196

LISTE DES ABBREVIATIONS

3-AFC	3 - Alternatives à choix forcé
3SH	3-sulfanylhexanol
ACP	Analyse en Composantes Principales
AFNOR	Association Française de normalisation
ANOVA	Analyse de la variance
AOC	Appellation d'Origine Contrôlée
Bq	Barrique
CLHP	Chromatographie liquide haute performance
CPG	Chromatographie en phase gazeuse,
CPG-O	Chromatographie en phase gazeuse- olfactométrie
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
E	Eugéno
EN	Norme européenne
f	Fraction
FID	Décteur à ionisation de flamme
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
ILR	Indice linéaire de rétention
In	Inox
ISO	Organisation internationale de normalisation
ISVV	Institut des Sciences de la Vigne et du Vin
m/z	Rapport masse sur charge des ions
Mas	Massoia Lactone

MDCPG-SM-O	Chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse-olfactométrie
N	2-nonen-4-olide
NF	Norme française
Non	Nonanal
O	Olfactométrie
OAV	Odor activity value
pCPG	Chromatographie en phase gazeuse préparative
pCPGf	Fraction de la Chromatographie en phase gazeuse préparative
pHMB	Acide p-hydroxymercuribenzoïque
RA	Reconstitution aromatique
RAP	Reconstitution aromatique partielle
RAT	Reconstitution aromatique totale
SH	Solution hydroalcoolique
SIM	Selected ion monitoring
SR	Sucres réducteurs
TAP	Titre alcoométrique potentiel
TAV	Titre alcoométrique volumique
VNT	Mélange non typé
VT	Mélange typé
WL	Whisky Lactone ou 3-méthyl-4-octanolide
γ N, GN	γ -nonalactone

1 INTRODUCTION GENERALE

Au sud-est du département de la Gironde, sur les deux rives de la Garonne et à proximité de Langon, se situent les vignobles réputés des grands vins liquoreux de Bordeaux. C'est à partir du 16^{ième} siècle que se sont établis, sur des terroirs argilo calcaires, sablo graveleux, argileux des crus ayant pour ambition de produire de grands vins blancs. Puis au cours du 18^{ème} siècle, la vocation des crus s'est progressivement affirmée dans la production exclusive de vins liquoreux de pourriture noble (Lavaud, 2001). Aujourd'hui, les appellations d'origine contrôlée de vins liquoreux de Bordeaux comptent de nombreux domaines viticoles - grands et petits, certains avec un vieux château parfois majestueux, d'autres avec une ferme modeste - tous consacrés à la production de vins dont les meilleurs associent richesse et finesse. Parmi les appellations, l'appellation Sauternes-Barsac bénéficie d'une très grande réputation. Pour beaucoup, Sauternes-Barsac est synonyme de grands vins liquoreux.

A Sauternes comme ailleurs à Bordeaux, les vins liquoreux sont élaborés selon un procédé de vinification singulier à partir de raisins surmûris sous l'action du champignon *Botrytis cinerea*. De cette alliance, sont produits des vins aux nuances aromatiques exceptionnelles, qui évoquent notamment les agrumes confits, les fruits secs ou le miel. Cependant, jusqu'à une période récente, les composés à l'origine de leur arôme typique étaient mal connus. Les travaux menés par Sarrazin (2007) ont permis de démontrer le rôle clé de certains thiols volatils (notes zestées), de lactones (nuances de noix de coco, fruités), de certaines furanones (nuances de sucre cuit), et du phenylacétaldéhyde (note de miel, florale) dans l'expression aromatique des vins liquoreux de pourriture noble.

Le développement de la pourriture noble sur les cépages de Sémillon et du Sauvignon blanc, contribue beaucoup à l'accroissement des teneurs de ces composés. Ces résultats vérifient les pratiques empiriques et confirment l'intérêt de la botrytisation pour amplifier la palette aromatique des vins liquoreux. Il apparaît que le champignon agit à plusieurs niveaux pour accroître la concentration des composés clés. Tout d'abord, *Botrytis cinerea* accélère le phénomène de passerillage. Il modifie aussi la composition des baies en produisant à la fois des composés odorants, dont le phenylacétaldéhyde et les lactones et en induisant une augmentation de précurseurs d'arômes de nuances zestées, tels les précurseurs cystéinylés et glutathionylés (Sarrazin *et al.*, 2007; Thibon *et al.*, 2009, 2011). En outre, le développement de *Botrytis cinerea* conduit à l'oxydation des composés phénoliques des raisins (acides phénols, monomères de flavan-3-ols), un mécanisme favorable pour les vins liquoreux, à une moindre réactivité des thiols responsables de nuances zestées (Nikolantonaki *et al.*, 2012 ; Sarrazin *et al.*, 2010).

Le vin est une matrice aromatique extrêmement complexe. Plus de mille composés ont été identifiés dans celui-ci, à des teneurs pouvant aller de quelques centaines de mg/L, à quelques µg/L, voire ng/L. Dans l'espace de tête au dessus d'un verre de vin, au moins une centaine de composés volatils sont présents. La composante aromatique des vins est la résultante de nombreux composés volatils, parmi lesquels, certains jouent un rôle particulier pour communiquer aux vins des tonalités aromatiques qui contribuent à leur identité ou typicité.

Dans le cadre de cette thèse, l'objectif est de progresser dans la connaissance des composés impliqués dans les notes de « fruits confits », typiques des vins liquoreux de pourriture noble. Ces travaux sont conduits grâce à des approches analytiques (identification de composés volatils par chromatographie en phase gazeuse, ou CPG, couplée à la spectrométrie de masse) et sensorielles (analyse par CPG-olfactométrie, tests d'omission sensorielle, de catégorisation et de reconstitution). Ils visent à caractériser de nouveaux marqueurs de l'arôme des vins de pourriture noble. Compte tenu de la complexité de la construction des images sensorielles à partir des composés volatils des vins, l'accent a été mis sur l'étude des phénomènes d'interactions perceptives (phénomènes d'antagonisme, de synergie, voire d'élaboration de nouveaux accords) entre composés clés de l'arôme. La reconstitution aromatique représente, en particulier, une voie importante de recherche afin de progresser dans la compréhension des phénomènes impliqués dans la construction de ces odeurs.

Aussi, le premier objectif a été de mettre en œuvre une méthodologie pour réaliser des tests visant à isoler des fractions présentant des nuances aromatiques caractéristiques de vins liquoreux de pourriture noble. Cette approche a été effectuée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) semi préparative puis avec le développement d'une méthode utilisant la chromatographie en phase gazeuse préparative. Ensuite, à l'aide de la technique de chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle, déjà utilisée au sein du laboratoire pour identifier des composés à l'état de traces (Pons *et al.*, 2007 ; Falcao *et al.*, 2010, Schuttler, 2012), il a été possible de repérer des composés volatils associés aux notes caractéristiques recherchées en vue de l'identification de composés volatils.

Progressivement, nous avons acquis la conviction que certains composés identifiés jouaient un rôle déterminant dans les tonalités aromatiques typiques de vins liquoreux au travers d'un phénomène d'interactions perceptives. Dans cet esprit, des expériences

sensorielles de reconstitution et des tests d'omission avec les composés identifiés ont été réalisés, à partir de fractions de vins et en solution simple.

Les derniers chapitres de cette étude sont consacrés à des objets de recherche œnologique plus finalisée avec le but de développer des protocoles permettant de préserver et de valoriser la qualité aromatique des vins liquoreux. Des corrélations ont été étudiées entre le niveau de concentration de certains composés volatils dans des vins liquoreux et vins secs avec leur appréciation sensorielle. Aussi, ont été pris en considération l'impact du stade de botrytisation de raisins de Sémillon et du type de contenant au cours de l'élevage des vins.

2 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1 LE RAISIN PARASITE PAR *BOTRYTIS CINEREA*

Le principal responsable de la pourriture du raisin est le champignon filamenteux *Botrytis cinerea*. Il est doué d'une grande polyphagie, il peut subsister en saprophyte sur des tissus sénescents ou morts tels que les bois de la vigne. Il est également capable d'attendre des conditions favorables à son développement sous diverses formes de résistance (sclérotés, conidies à grand pouvoir de dissémination). La présence de l'eau libre à la surface du tissu végétal ainsi qu'une température optimale de 18 degrés sont les conditions idéales pour la germination de ses structures de résistance et la croissance mycélienne (Donèche & Pucheu-Planté, 1986). L'aire de répartition de ce champignon est large et couvre un grand nombre de régions viticoles dans le monde.

Au cours de la maturation, le raisin perd la majeure partie de ses défenses, aussi bien physiques que chimiques. Les différences de sensibilité au parasite observées pour les divers cépages et clones résultent pour l'essentiel d'un décalage dans les cinétiques d'évolution dans la maturation des raisins. Les micro perforations de la cuticule et les fractures de l'auréole péristomatique constituent de plus une voie privilégiée pour la sortie des exsudats de raisin, indispensables à la germination des conidies et à la prolifération de *Botrytis cinerea* (Donèche, 1986 ; Padgett & Morrison, 1990). Les modifications de la constitution chimique du raisin au cours de la maturation, notamment l'enrichissement en sucres, en acides aminés et en pectines solubles, fournissent au champignon les nutriments indispensables à sa croissance mycélienne.

La composition de la microflore externe du raisin évolue au cours de la maturation et de la surmaturation en relation avec les conditions climatiques et les différents facteurs de propagation et de dissémination des microorganismes. L'infection des baies par *Botrytis cinerea* favorise le développement des microorganismes non-parasites (Donèche, 1987). Pendant la surmaturation, la prépondérance des champignons filamenteux tend à diminuer au profit des espèces levuriennes, et parmi lesquelles le champignon *Botrytis cinerea* prédomine (Nissiotou *et al.*, 2007).

2.2 LA POURRITURE NOBLE

Dans le monde, quelques rares sites présentent les conditions particulières qui peuvent être favorables au développement du *Botrytis cinerea* dans le cadre de la pourriture noble. Le développement se fait sur les raisins parvenus à maturité, provoquant un véritable processus de surmaturation, qui améliore la qualité du fruit - et *in fine* du vin - par l'augmentation de la richesse en sucres et par l'amplification de la palette aromatique.

Le raisin parasité se déshydrate. Les sucres sont partiellement métabolisés par le champignon. Néanmoins, le facteur de concentration peut atteindre à 2,8 (Duhail, 1999). Les concentrations en acides diminuent considérablement est plus important que celui des acides qui sont plus encore métabolisés par *Botrytis cinerea*. Mais surtout, le raisin acquiert des arômes caractéristiques, en particulier de fruits confits, autorisant l'élaboration de vins blancs aux nuances aromatiques très différentes de celles des vins blancs secs issus des mêmes cépages.

L'obtention de cette véritable pourriture noble nécessite des conditions spécifiques d'un point de vue climatique. De façon générale, on peut considérer que le développement du *Botrytis cinerea* sous forme de pourriture noble est favorisé par des alternances de périodes sèches (dix jours environ) et humides (trois à quatre jours). L'humidité de la nuit, la rosée et les brouillards matinaux fréquents dans les vallées de certaines fleuves, vont stimuler le développement fongique tandis que des après-midi chauds, ensoleillés et venteux, vont faciliter l'évaporation de l'eau, en limitant la croissance du champignon (Duhail, 1999).

De nombreux paramètres participent à ce phénomène :

- ✓ Le sol qui, par sa nature et son drainage éventuel, doit permettre une élimination rapide des eaux pluviales afin d'empêcher l'éclatement de la pellicule des baies (Pucheu-Planté & Seguin, 1981).
- ✓ L'intensité et la disposition du couvert végétal pour qu'un maximum de grappes soient aérées et exposées au soleil.
- ✓ La structure même des grappes avec une faible compacité, évitant le développement de pourritures vulgaires.

Le processus d'infection du champignon dans le cas de la pourriture noble se déroule de la façon suivante : l'infection est provoquée par la germination d'une conidie à la surface du raisin. La présence de nutriments exogènes facilite l'élongation du tube germinatif et lorsque l'hyphe mycélien atteint une microfissure, il pénètre dans le raisin (Pucheu-Planté, 1979).

Quand le mycélium a totalement envahi les parois pecto-cellulosiques des cellules situées sous la pellicule, la baie possède une couleur « chocolat » caractéristique du stade « pourri plein ». Le mycélium produit alors des filaments qui émergent à la surface de la pellicule, en perçant la cuticule ou profitant des diverses fissures utilisées lors de la pénétration. L'extrémité de ses filaments se différencie pour donner des conidiophores dont les conidies se détacheront ensuite pour contaminer les baies voisines.

Les parois cellulaires du tissu végétal sont si fortement modifiées qu'elles n'assurent plus leurs fonctions. En particulier, l'hydratation des cellules de la baie n'est plus régulée ; elle peut varier au gré des conditions climatiques et doit conduire, dans l'évolution idéale, à une dessiccation caractéristique accompagnée de la mort cytoplasmique des cellules épidermiques. La concentration en sucres de ces cellules est importante et, face à une pression osmotique aussi élevée, le champignon ne peut plus se nourrir et cesse son développement. Ce stade confit, connu sous le nom de « pourri rôti » est utilisé pour l'élaboration des vins blancs liquoreux (Donèche, 1987).

Les observations réalisées pendant de nombreuses années dans le vignoble de Sauternes montrent que les premiers symptômes de l'attaque apparaissent 15 à 20 jours avant la maturité. Quelles que soient les conditions climatiques, le développement de *Botrytis cinerea* est lent jusqu'à la maturité. A ce stade, il se produit une expansion brutale du parasite et, à un instant donné, un pourcentage élevé de raisins parvient simultanément au stade « pourri plein ».

La maturité des baies de raisin au sein d'un vignoble, d'une parcelle et même d'une grappe n'est jamais rigoureusement synchrone. Dès qu'une baie approche de la maturité, elle est contaminée par des conidies provenant de baies pourries voisines. Cet asynchronisme implique notamment la récolte par « tries » successives.

2.3 LA CONSTITUTION DE MOUTS PROVENANT DES RAISINS ATTEINTS PAR LA POURRITURE NOBLE

La réduction du volume de récolte sous l'influence de pourriture noble peut atteindre 50%. L'obtention de la qualité est conditionnée par de faibles rendements à l'hectare, entre 15 et 30 hL.

La croissance du champignon se traduit par une consommation importante de l'acidité, proportionnellement plus importante que celle des sucres. *Botrytis cinerea* possède la propriété assez rare de dégrader l'acide tartrique, dont la teneur diminue plus que celle de l'acide malique ; en conséquence le pH augmente de 0,2 unité. Dans le moût, cet effet se traduit par une augmentation significative de la richesse en sucre, avec une légère baisse de l'acidité.

Le glycérol et l'acide gluconique, formés par *Botrytis cinerea* aux dépens des sucres, jouent un rôle important dans la caractérisation de la pourriture. Le premier produit au début du développement de *Botrytis cinerea* est d'autant plus abondant que la pourriture est noble ; le second par contre, formé beaucoup plus tard, correspond à une mauvaise évolution de la pourriture. Le rapport glycérol/acide gluconique est d'autant plus élevé que la pourriture est bonne (Donèche, 1987).

Par ailleurs, l'oxydation du glucose permet à *Botrytis cinerea* de former deux polysaccharides, dont les conséquences œnologiques peuvent être importantes (Dubourdiou, 1982). Il s'agit d'un colloïde protecteur, β -1,3-glucane, responsable de difficultés de filtration des vins liquoreux de pourriture noble en vue de la clarification et d'un complexe d'hétéropolysaccharides.

Le développement de *Botrytis cinerea* s'accompagne aussi d'une modification des enzymes de la baie. La tyrosinase du raisin est remplacée par une laccase (Dubernet *et al.*, 1977) enzyme d'oxydation beaucoup plus active sur les composés phénoliques. Sa principale action réside dans l'oxydation de substrats phénoliques variés, leur transformation en quinones, puis leur polymérisation et leur précipitation (Salgues *et al.*, 1986). De ce fait, les moûts des raisins rôtis sont pratiquement dépourvus de composés phénoliques, ce qui les rend peu sensibles à l'oxydation (Dubourdiou, 1999).

En outre, *Botrytis cinerea* synthétise de nombreuses enzymes (cellulase, polygalacturonase) qui lui sont nécessaires pour assurer sa pénétration au travers de la baie. Une activité estérase a également été mise en évidence chez *Botrytis cinerea* (Dubourdiou & Ribéreau-Gayon, 1985). La cinétique enzymatique dépend du groupement carboxylate et de la fonction hydroxyle associée de l'ester. Cette activité enzymatique, peu influencée par la présence de l'éthanol, permet la libération d'acides gras.

De ce fait, même les esters fermentaires peuvent être hydrolysés, ce qui modifie notablement le profil aromatique du vin (Dubourdiou & Ribéreau-Gayon, 1985). Enfin, *Botrytis cinerea* possède une activité β -glucosidase qui lui permet d'hydrolyser des glycosides terpéniques présents dans la baie pour libérer les composés terpéniques (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012).

2.4 LA VINIFICATION DES VINS LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE

2.4.1 Les difficultés de la fermentation

Compte tenu de l'évolution de la qualité de la vendange d'un jour à l'autre, en fonction des conditions climatiques et de l'évolution de la pourriture, il est recommandé d'isoler et de vinifier séparément les moûts en fonction de la date de la récolte. Il est bien évident que la distinction entre « pourriture noble » et « pourriture vulgaire » n'est pas toujours aisée. Les conditions météorologiques pendant l'arrière saison (mois d'Octobre et Novembre) et les modalités de récolte sont essentielles. Les raisins atteints de pourriture vulgaire pouvant accompagner, en proportion plus au moins grande, ceux touchés par la pourriture noble, risquent de conduire à des teneurs plus élevées en acidité acétique dans les moûts (niveau plus important d'acidité volatile), ainsi qu'à des défauts olfactifs évoquant des notes « moisies », d'« iode » ou de « phénol » (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012). En outre, dans les vendanges altérées, le niveau de composés carbonylés provoquant une combinaison excessive du dioxyde de soufre est accrue rendant plus difficile la conservation des vins (Barbe *et al.*, 2000).

Par ailleurs, la grande richesse en sucres des moûts botrytisés ainsi que l'épuisement d'éléments nutritifs du raisin lié au développement *Botrytis cinerea* pendant sa croissance, en particulier les composés azotés, vont conduire à des difficultés de fermentescibilité des moûts. Pour améliorer la marche de la fermentation et en même temps limiter la production d'acidité volatile, il est recommandé d'ajouter du sulfate d'ammonium, afin que la teneur en azote assimilable soit ajustée en début de la fermentation à une valeur de 190 mg/L (Bely *et al.*, 2003). Masneuf & Dubourdieu (2000) ont quantifié en moyenne une teneur de 84 mg/L dans des moûts issus de raisins botrytisés, alors que pour les moûts sains de raisins blancs, la valeur se situe à 180 mg/L (Masneuf & Dubourdieu 2000). Par ailleurs, en dessous de 140 mg/L d'azote assimilable, des difficultés de fermentation alcoolique sont généralement observées (Agenbach *et al.*, 1977).

Une autre cause de difficultés de fermentation des moûts botrytisés est associée à la présence d'une substance fongique, de nature polysaccharidique, qui affecte la cinétique fermentaire. Les hétéropolysaccharides de *Botrytis cinerea* peuvent avoir une action inhibitrice sur le métabolisme de *Saccharomyces cerevisiae* et ils peuvent accroître la formation d'acide acétique et de glycérol par la levure. Ainsi, il a été établi que pour une richesse en sucre identique, le moût est d'autant plus difficile à fermenter que les raisins étaient plus profondément attaqués par *Botrytis cinerea* (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012).

Ensuite, l'inoculation du moût est fortement recommandée ; le choix de la souche de levure doit tenir compte de sa résistance à l'éthanol et de sa faible aptitude à former de l'acidité volatile dans des conditions de fermentations difficiles. Surtout, les modalités de préparations des levains impactent significativement sur la limitation de production d'acidité volatile. D'abord, il a été montré que la pré-culture des levures pendant 24 h dans un milieu peu riche en sucre (<220 g/L) tel un moût sain ou un moût issu d'une vendange botrytisée dilué de moitié est préconisée non seulement pour limiter la production d'acidité volatile, mais également réduire la durée de fermentation et le rendement sucre/alcool (Bely *et al.*, 2005). Enfin, il a été montré aussi que la co-inoculation du moût avec des souches de levures appartenant aux espèces *Torula delbrueckii* et *Saccharomyces cerevisiae* peut diminuer les teneurs en acétaldéhyde et acide acétique des vins (Bely *et al.*, 2008).

2.4.2 L'arrêt de la fermentation (mutage)

Les équilibres gustatifs, nécessaires dans ce type de vin, s'appuient sur une relation entre la teneur en sucres et le degré alcoolique. La fermentation s'arrêtant rarement spontanément, et de façon exacte à l'équilibre alcool/sucre souhaité, il faut procéder à l'arrêt de la fermentation alcoolique par addition de dioxyde du soufre. L'ajout d'une dose massive de dioxyde du soufre (20 à 30 g/hL) bloque instantanément toute activité levurienne et évite la production, même limitée, d'éthanal par la levure.

2.5 NOTION DE LA TYPICITE

Dans le contexte de l'œnologie, le terme français typicité a été introduit dans les années 80 par des chercheurs français comme une meilleure caractérisation des vignes expérimentales issues de terroirs différents par analyse sensorielle au centre INRA d'Angers (Salette, 1997). Lorsque la notion de la typicité est appliquée à l'œnologie elle représente « l'ensemble des caractéristiques, résultant du cépage, de la terre, des techniques de vinification, etc. » (Sauvageot, 1994). Cette définition du mot typicité semblait préférentiellement réservée à l'œnologie. C'est aujourd'hui loin d'être le cas puisque son usage s'est élargi à bien d'autres domaines. Le substantif de typicité vient de l'adjectif « *typique* » au même titre que « *spécificité* » dérive du terme « *spécifique* » ou qu'« *élasticité* » d' « *élastique* » (Salette, 1997). Le contenu sémantique est donc porté par l'adjectif « *typique* ».

Salette (1997) apporte une autre définition dans laquelle l'accent est mis sur le fait que le type constitue « *la forme idéale qui réunit au plus haut degré, les propriétés, les traits, les caractères essentiels (...) d'une catégorie* ». Plus récemment, la notion de typicité du vin a été précisée par Dubourdieu (2007), considérant qu'un vin typique doit présenter des caractères organoleptiques « originaux, reconnaissables par l'amateur, comme le producteur, associés à un terroir et difficilement copiables, reflétant une image contemporaine et apte à la conservation ».

Dans ces définitions, deux notions apparaissent, l'une relative à la notion d'exemple représentatif, caractéristique ou de modèle idéal, l'autre relative à la notion de spécificité, d'originalité. Cette double signification semble interpeller Baudouin (2003) qui affirme qu'original n'a pas le même sens que typique. Le terme original signifie « *qui ne ressemble à*

rien d'autre, qui est unique » alors que typique se définit comme caractérisant un type. En psychologie cognitive, la formulation est différente. Pour une catégorie donnée, on appelle exemples typiques ou représentatifs, ceux dont le nombre d'attributs dominants de la catégorie est le plus élevé, considérant que ces attributs déterminent la spécificité de cette même catégorie quand elle est comparée à d'autres catégories.

Il existe un grand nombre d'études qui concernent la caractérisation sensorielle et/ou physico-chimique d'une catégorie d'aliments. La plupart de ces études s'appuient implicitement sur une hypothèse rarement vérifiée : la catégorie d'aliments étudiée est-elle associée à un espace sensoriel propre au sein duquel les produits partagent des caractéristiques sensorielles, des attributs, qui permettent de les reconnaître comme membres de la catégorie en question ?

Le domaine d'étude des arômes du vin constitue un exemple très significatif de la notion de typicité considérant les nuances aromatiques caractéristiques des vins selon la nature des cépages, les conditions de leur élaboration. Aussi, la complexité aromatique du vin peut se trouver modulée par les facteurs naturels associés au terroir, et selon la pertinence des choix de l'homme à tous les stades de l'élaboration des vins. Pour couper court à une vision restrictive dans laquelle se trouve parfois considérée la notion de typicité, précisons que les vins typés n'ont pas vocation à présenter des caractères organoleptiques standardisés. La notion de typicité aromatique rassemble des vins identifiables (par l'amateur et le professionnel), comme l'on reconnaît les membres d'une même famille, proches mais cependant différents.

Des caractérisations sensorielles et physico-chimiques ont été réalisées sur des vins appartenant à une appellation donnée, en l'occurrence Morgon, sans qu'ait été préalablement vérifié si les vins en question pouvaient être différenciés sensoriellement des vins relevant d'appellations voisines (Augris, 1994). Dans d'autres cas, la catégorie étudiée était basée sur la nature du cépage d'origine (Simpson & Miller, 1984 ; Paloc *et al.*, 1993 ; Aleixandre *et al.*, 2002) mais les auteurs n'ont pas davantage pris soin de vérifier dans quelle mesure tout ou partie des résultats obtenus (descripteurs ou composés volatils) étaient propres au cépage étudié ou, au contraire communs à tous les vins. Dans d'autres cas, l'existence d'un espace sensoriel propre est présumée pour une catégorie d'aliment donnée. La question de la typicité par le goût devient alors légitime. Bien qu'appartenant à la catégorie en question, les échantillons constitutifs, rassemblés sur des critères non sensoriels, ne présentent, en effet,

aucune garantie d'être sensoriellement typiques de la catégorie. Ainsi, Guichard *et al.* (1990), dans une étude sur l'arôme de l'abricot, ont montré que celui de certaines variétés était jugé non typique par un panel d'analyse sensorielle tandis que l'arôme d'autres variétés correspondait effectivement à la représentation de l'arôme d'abricot frais que partageaient les sujets. De même, Moio *et al.* (1994), ont montré que, dans la catégorie « vins de Chardonnay de Bourgogne » définie, une fois de plus, sur des critères non sensoriels, un tiers des vins était considérés, du point de vue sensoriel, comme atypiques. Dans cette étude, les auteurs ont aussi montré que, pour un échantillonnage de vins de Chardonnay de Bourgogne comprenant des Appellations Régionales, Communales, Premier Cru et Grand Cru, chaque niveau d'appellation renfermait à la fois des vins reconnus comme typiques et atypiques que le degré de typicité n'était en rien corrélé au degré de prestige de l'appellation. C'est par exemple le cas bien connu des vins élaborés à partir de raisins de *Vitis rotundifolia* ou *Vitis labruscana* caractérisés respectivement par des arômes animaux et caramel (Sun *et al.*, 2011).

Des travaux récents ont montré un espace sensoriel propre aux vins rouges de Bordeaux, qui pourrait être corrélé à un caractère fruité de type « fruits noirs » et « fruits confiturés » de ces vins (Pineau, 2007). Ensuite, des travaux concernant les vins de pourriture noble du Bordelais et des vins de Riesling ont corrélé la typicité des ces vins avec des molécules responsables (Sarrazin, 2007 ; Schüttler, 2012).

Dans le cas des vins de Riesling la typicité a été bien corrélé avec certains composés thiols, tel que le 3-sulfanylhéxan-3-ol mais pas avec le linalol ou le 1,1,6-triméthyl-dihydronaphtalène (Schüttler, 2012). Ensuite, dans les vins liquoreux du Bordelais la typicité a été bien corrélée avec certains représentants de familles chimiques possédant une fonction thiol, des lactones et certains aldéhydes (Sarrazin, 2007 ; Sarrazin *et al.*, 2008).

La notion d'espace sensoriel revient donc à regrouper des produits présentant des caractéristiques sensorielles, des attributs, qui permettent de les reconnaître comme membres d'un ensemble spécifique (Ballester, 2004). L'existence de cet espace sensoriel propre permet ensuite la caractérisation, par des approches sensorielles et instrumentales, de la catégorie circonscrite (Ballester *et al.*, 2005).

2.6 LA COMPOSITION AROMATIQUE DES VINS DE POURRITURE NOBLE

2.6.1 Introduction

Parmi les différents facteurs qui contribuent au plaisir associé à la consommation du vin, la saveur est sans doute le plus important. La saveur est le résultat des interactions entre les composés constituants du vin, le sens du goût ainsi que l'olfaction du consommateur.

La saveur est composée d'une part de composés volatils, responsables des nuances aromatiques, et d'autre part des composés non volatils, desquels résultent les sensations et le goût, tels la sucrosité, l'acidité, l'amertume, la salinité et l'astringence. Les composés qui sont principalement associés sont les tanins (Bate-Smith, 1954), les acides organiques, les sucres, voire de nouvelles molécules nouvellement caractérisées comme les quercotriterpénoïdes qui peuvent apporter sensation gustative de sucrosité (Marchal et *al.*, 2011).

Sur la partie volatile du vin, une très grande diversité de tonalités aromatiques existe associée à des registres très variables de finesse et de complexité. En général, les composants volatils peuvent être perçus en faibles concentrations, puisque nos organes sensoriels sont extrêmement sensibles à certaines substances aromatiques.

La complexité de l'arôme du vin tient aussi à la diversité des mécanismes intervenant dans sa genèse. Une distinction est faite entre : 1) le métabolisme du raisin lui-même, influencé par le cépage, mais aussi par le sol, le climat, les pratiques viticoles 2) les phénomènes biochimiques préfermentaires (oxydation, hydrolyse), déclenchés lors de l'extraction des jus et pendant la macération 3) les métabolismes fermentaires des microorganismes, assurant les fermentations alcoolique et malolactique. 4) des réactions post-fermentaires, principalement chimiques, parfois enzymatiques, intervenant au cours de la conservation du vin et de son vieillissement en bouteille.

2.6.2 L'arôme des vins de Pourriture noble

Les vins liquoreux sont élaborés selon un procédé de vinification singulier à partir des raisins surmûris sous l'action du champignon *Botrytis cinerea*. De cette alliance sont produits

des vins aux nuances aromatiques exceptionnelles, qui évoquent notamment les agrumes confits, les fruits secs ou le miel. Cependant, jusqu'à une période récente, les composés à l'origine de leur arôme typique étaient mal connus.

Le développement de la pourriture noble sur les cépages de Sémillon et du Sauvignon blanc, contribue beaucoup à l'accroissement des teneurs de ces composés. Ces résultats vérifient les pratiques empiriques et confirment l'intérêt de la botrytisation pour amplifier la palette aromatique des vins liquoreux. Il apparaît que le champignon agit à plusieurs niveaux pour accroître la concentration des composés clés. Tout d'abord, *Botrytis cinerea* accélère le phénomène de passerillage. Il modifie aussi la composition des baies en produisant à la fois des composés odorants, comme le phénylacétaldéhyde et les lactones tout en induisant une augmentation de précurseurs d'arômes de nuances zestées, comme les précurseurs cystéinylés et glutathionylés (Sarrazin *et al.*, 2007a ; Thibon *et al.*, 2009, 2011). En outre, le développement de *Botrytis cinerea* conduit à l'oxydation des composés phénoliques des raisins (acide phénols, monomères de flavan-3-ols), un mécanisme favorable pour les vins liquoreux, à une moindre réactivité des thiols responsables de nuances zestées (Nikolantonaki *et al.*, 2012 ; Sarrazin *et al.*, 2010).

Les travaux menés par Sarrazin (2007) ont permis de démontrer le rôle clé de certains thiols volatils (notes zestées), de certaines furanones (nuances de sucre cuit) phénylacétaldéhyde (note de miel, florale) ainsi que des lactones (nuances de pêche, de figue....) dans l'expression aromatique des vins liquoreux de pourriture noble. Parmi les marqueurs étudiés certains composés sont corrélés significativement avec le niveau de typicité des vins (Sarrazin *et al.*, 2008).

2.6.2.1 Les thiols volatils

Depuis le début des années 1990, plusieurs thiols très odorants ont été identifiés et constituent une famille chimique prépondérante dans l'arôme des nombreux vins. Ils possèdent des seuils de perception très faibles, inférieurs à la centaine de ng/L. Les thiols présentent des nuances herbacées, fruitées et empyreumatiques.

La première molécule découverte comme composant caractéristique de l'arôme des vins de Sauvignon blanc, est la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one qui évoque des odeurs puissantes

de buis et de genêt (Darriet, 1993 ; Darriet *et al.*, 1995). Plusieurs autres thiols volatils odorants ont été ensuite identifiés dans les vins de Sauvignon blanc: l'acétate de 3-sulfanylhexyl (Tominaga *et al.*, 1996), le 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-ol, le 3-sulfanylhexanol, le 3-méthyl-3-sulfanylbutanol (Tominaga *et al.*, 1998b ; Tominaga *et al.*, 2000) ; le 3-sulfanylpropanol, le 2-sulfanylethyl acétate (Lavigne *et al.*, 1998) ; le 3-sulfanylpropyl acétate (Tominaga *et al.*, 1998b ; Tominaga *et al.*, 2000; Tominaga *et al.*, 2003b) ; l'éthyl-2-sulfanylpropionate, l'éthyl-3-sulfanyl-propionate (Tominaga *et al.*, 2003b) ; le benzenemèthanethiol (Tominaga *et al.*, 2003a). Les thiols volatils participent également, dans une moindre mesure, à l'arôme des vins des cépages Scheurebe (Guth, 1997), Sémillon, Petit et Gros Manseng (Tominaga *et al.*, 2000), Petite Arvine (Fretz *et al.*, 2005a ; Fretz *et al.*, 2005b), Albarino, Malvasia, Parellada, Verdejo (Campo *et al.*, 2005), Maccabeu (Escudero *et al.*, 2004) et Kosu (Kobayashi *et al.*, 2010).

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.*, 1998b ; Blanchard, 2000 ; Blanchard *et al.*, 2004). 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 ; Silva Ferreira *et al.*, 2003b). Dans les vins rouges, le caractère fruits rouges, en particulier les notes de cassis est accentué par sa présence (Ferreira *et al.*, 2001 ; Blanchard *et al.*, 2004). Par ailleurs, les travaux de Pineau (2007) laissent à penser que les thiols volatils et les composés soufrés, d'une manière plus générale, ne sont pas directement responsables du caractère fruité typique des vins rouges de Bordeaux puisque celui-ci peut demeurer intact après l'addition de pHMB (acide p-hydroxymercuribenzoïque) ou de sulfate de cuivre et contribuent plutôt à l'amplifier.

Les thiols volatils sont révélés, lors de la fermentation alcoolique, grâce à l'intervention de β -lyases de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Tominaga *et al.*, 1998a). Les teneurs en thiols volatils dans les vins de Sauvignon blanc sont fortement corrélées à celles en précurseurs cystéinylés présents dans le moût (Peyrot des Gachons *et al.*, 2000). Enfin, la présence d'un précurseur de type S-conjugué au glutathion (S-GSH) a été mise en évidence dans le moût de Sauvignon blanc (Peyrot des Gachons *et al.*, 2002) pour le S-3-hexan-1-ol-glutathion puis récemment confirmée par des techniques de CLHP-SM (Capone *et al.*, 2010 ; Kobayashi *et al.*, 2010 ; Roland *et al.*, 2010) et démontrée pour le 4-S-glutathionyl-4-méthylpentan-2-one (Fedrizzi *et al.*, 2009).

Dans les vins liquoreux de pourriture noble, Tominaga *et al.* (2000) ont détecté le 3-sulfanylhéxanol et la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one en concentration très élevées en comparaison avec des vins blanc secs de même cépage. Sarrazin *et al.* (2007b) ont identifié et quantifié trois nouveaux thiols volatils les 2-méthyl-3-sulfanylbutanol, 3-sulfanylpentanol et 3-sulfanylheptanol. Les mêmes thiols volatils ont été quantifiés lors d'une étude sur l'évolution des teneurs de ces composés au cours de l'élevage en bouteilles des vins liquoreux de pourriture noble (Bailly *et al.*, 2009).

Puis, Sarrazin *et al.* (2007b) ont mis en évidence des effets d'additivité entre le 3-sulfanylhéxanol, le 3-sulfanylpentanol et le 3-sulfanylheptanol. En effet, l'addition de 3-sulfanylpentanol et de 3-sulfanylheptanol dans un vin contenant du 3-sulfanylhéxanol permet de modifier à la fois l'intensité de l'odeur globale, mais également la description de l'odeur. Enfin, avec des outils statistiques comme le test Kendall-Pearson, une corrélation significative a été mise en évidence entre le niveau de typicité des vins liquoreux de la région bordelaise et les teneurs déterminées pour les thiols comme la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one ($\rho=0,70$), le 3-sulfanylhéxanol ($\rho=0,71$), le 3-sulfanylpentanol ($\rho=0,73$), le 3-sulfanylheptanol ($\rho=0,55$) et la 2-méthyl-3-sulfanylbutanol ($\rho=0,68$) (**Figure 1**). Par conséquent, malgré leurs concentrations souvent inférieures au $\mu\text{g/L}$, les thiols volatils ont un impact majeur sur le profil aromatique des vins liquoreux de pourriture noble.

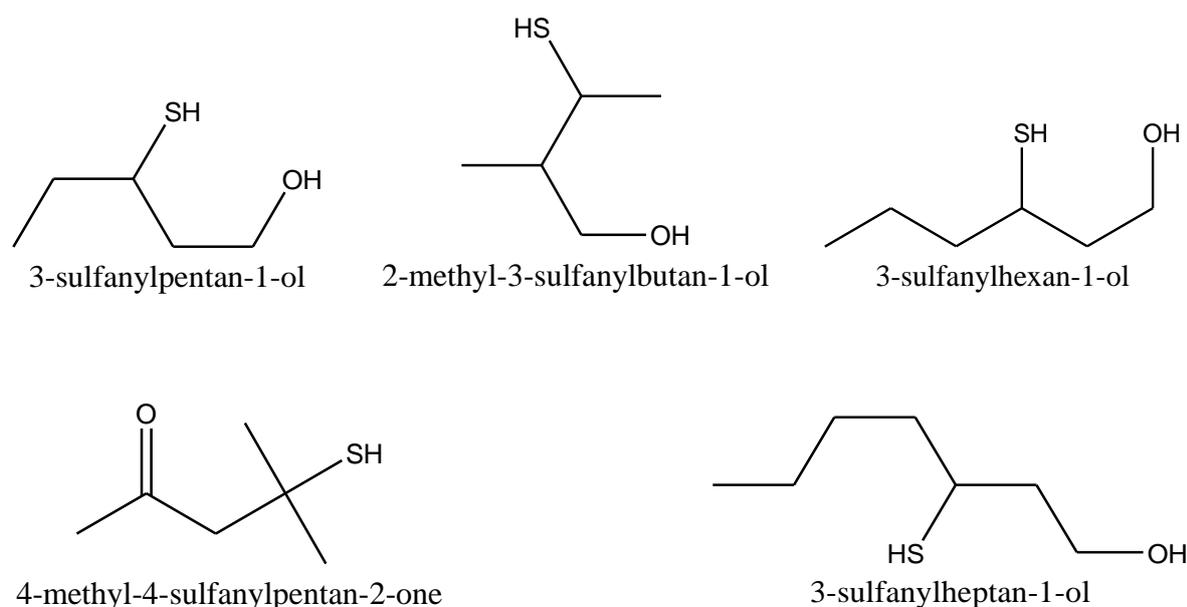


Figure 1 : Structure de principaux thiols identifiés dans les vins de pourriture noble (Darriet *et al.*, 1995 ; Tominaga *et al.*, 2000 ; Sarrazin *et al.*, 2007b)

2.6.2.2 Les lactones

Les lactones sont des composés hétérocycliques trouvés dans la nature dans une grande variété d'aliments et de boissons. La structure de lactones est caractérisée par un groupe ester cyclique. Elles peuvent contenir des cycles de différentes tailles, mais les plus courants sont des cycles avec cinq ou six centres. Ils peuvent posséder également divers degrés de saturation ainsi que différentes chaînes latérales. Les lactones résultent de réactions d'estérification interne. Certaines peuvent être d'origine fermentaire, comme la γ -butyrolactone, qui proviendrait de la dégradation d'Ehrlich de l'acide glutamique, mais la plupart sont formées par mécanisme chimique à partir des acides hydroxylés (Muller *et al.*, 1973).

Les lactones existent en tant que substances odorantes dans tous les principaux groupes d'aliments, les fruits et légumes, le pain, les noix, les produits laitiers ainsi que dans des aliments tels que le miel et le maïs soufflé. Les lactones sont également présentes dans différentes boissons comme le thé, le café et le vin (Maga, 1976).

Les γ et δ -lactones sont caractérisées par des notes fruitées notamment de pêche, d'abricot et de noix de coco (Dufossé *et al.*, 1994). Les γ -lactones rappellent les fruits à noyaux comme la pêche ou l'abricot, alors que les δ -lactones se caractérisent par des notes lactées qui évoquent souvent la noix de coco (Mosandl, 1992). Des recherches sur le seuil de perception des lactones ont montré que les γ -lactones semblent être plus puissantes que les δ -lactones correspondantes (Etievant *et al.*, 1983 ; Engel *et al.*, 1988)

Les teneurs en lactones des vins sont souvent inférieures aux valeurs de seuils de détection olfactive mais cet écart est relativement faible pour certaines d'entre elles comme la γ -nonalactone par exemple (Ferreira *et al.*, 2004). Cette dernière pourrait avoir, en complément du 3-méthyl-2,4-nonanedione (Pons *et al.*, 2013), un rôle dans la note fruitée des vins rouges évolués, vu l'augmentation de niveau de ses concentrations dans le vin au cours de vieillissement (Ferreira *et al.*, 2004 ; Pons *et al.*, 2008). Leur contribution à la note fruitée des vins rouges jeunes n'a pas été précisément 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.

Concernant les lactones, elles possèdent presque toutes des formes énantiomériques. L'abondance des énantiomères individuels dans la nature varie considérablement, mais il y a une tendance générale à une dominance de la configuration (R) (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Distribution énantiomérique des γ -lactones dans quelques fruits

Fruit	γ -octalactone	γ -nonalactone	γ -décalactone	γ -dodécalactone	Référence
Abricot	89/11	84/16	94/6	100/0	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
	85/15	-	100/0	100/0	Greger et Schieberle 2007
Mangue	53/47	73/27	66/34	100/0	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
Fruit de la passion	59/41	93/7	91/9	98/2	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
	72/28	66/34	93/7	100/0	Nitz <i>et al.</i> , 1991
Pêche	87/13	85/15	87/13	96/4	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
Fraise	66/34	64/36	98/2	98/2	Bernreuther <i>et al.</i> , 1989
	85/15	88/12	99/1	100/0	Nitz <i>et al.</i> , 1991

Différentes études (Mosandl & Günther, 1989 ; Cooke, 2009a) ont observé que l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée conduit à une diminution de l'arôme de noix de coco et une augmentation des notes fruitées sucrées. Dans ces études, les formes énantiomères (R) semblent être plus puissantes que les formes énantiomères (S) correspondantes (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Descripteurs de différentes formes énantiomères de γ -lactones

Descripteurs	
R-γ-octalactone	noix de coco avec des notes d'amande, épicé-vert
S-γ-octalactone	noix de coco, gras
R-γ-nonalactone	noix de coco avec les aspects fruités, fort, doux
S-γ-nonalactone	notes gras, moisis, faible noix de coco
R-γ-décalactone	caramel, note fruitée gras-sucré, noix de coco, doux, fort
S-γ-décalactone	noix de coco doux avec notes fruités
R-γ-dodécalactone	note fleurie avec des aspects d'aldéhydes, boisé, puissant, fruité, sucré
S-γ-dodécalactone	gras fruité, notes lactées

Identifiée pour la première fois dans le whisky par Suomalainen et Nykanen (1970) la « oak lactone », a été citée comme un composé spécifique de boissons élevées en fut de chêne. Puis, Kepner *et al.* (1972) a correctement identifié l'isomère cis (Z) de la « oak lactone » dans

un vin de Cabernet Sauvignon. Il a conclu que ce composé avait pour origine le bois de chêne, dans la mesure où cet isomère n'avait pas été détecté dans le même vin élevé en cuve d'acier inoxydable. Le nouveau composé a aussi été nommé «whisky lactone», en raison de son isolement initial dans de vieux whiskies.

Depuis ce temps, d'autres noms ont été utilisés pour définir ce composé notamment quercus lactone, quercus lactones a et b, β -méthyl- γ -octalactone, 4-hydroxy-3-méthyl- γ -octanoïque acide γ -lactone, 3-méthyl-4-acide γ hydroxycaprylique-lactone, 3-méthyl- γ -lactone et le 3-méthyl-4-octanolide.

Il a ensuite été démontré qu'il y avait en fait deux structures d' « oak lactone » (Masuda *et al.*, 1971) et non une seule comme cela avait été initialement rapporté. Les deux diastéréoisomères de la « oak-lactone » ont été isolés dans le bois de chêne et aussi identifiés à partir de trois espèces ; *Q. mongolica*, *Q. serrata* et un chêne blanc (Amérique du Nord). Otsuka *et al.* (1974) également ont identifié les « oak lactones » directement à partir de bois ; ils montrent une augmentation de la concentration de « oak lactone » en lien avec le vieillissement des eaux de vie en barriques. Ainsi, la structure d' « oak lactone » dispose de deux carbones asymétriques et donc il y a un total de quatre stéréo-isomères possibles.

Le rapport entre les isomères cis et trans est caractéristique de l'origine du bois de chêne (Waterhouse & Towey, 1994). Pour le chêne américain, ce rapport varie de 5 à 8, avec une moyenne de $6,0 \pm 1,3$ (pour l'isomère cis). Pour le chêne européen, le ratio varie entre 1 à 1,5, avec une moyenne de $1,3 \pm 0,2$ (pour l'isomère cis). En analysant le rapport des isomères, il est possible de déterminer la source de bois utilisée pour l'élevage des vins. Par des travaux complémentaires il a été montré que le chêne américain présente environ 10% d'isomère trans alors que le chêne européen présente des quantités presque égales entre les isomères trans et cis (Perez-Coello *et al.*, 1999).

Concernant les vins liquoreux de pourriture noble, la quantification effectuée par Sarrazin (2007), révèle la présence de concentrations plus élevées de lactones dans ces vins que dans les vins blancs secs issus des mêmes cépages (Sarrazin, 2007). De plus Sarrazin (2007) a pu identifier pour la première fois dans les vins blancs liquoreux la massoia lactone. Les travaux de Pons *et al.* (2011) ont permis ensuite d'identifier la massoia lactone dans les moûts et les vins rouges. L'impact organoleptique de la massoia lactone a été établi particulièrement dans les moûts marqués par des nuances de figue ou de pruneau. En revanche, la contribution de la

massoia lactone aux odeurs de pruneau des vins rouges jeunes demeure incertaine compte tenu du rapport entre les concentrations de ce composé dans les vins rouges et le seuil de perception olfactive de ce composé.

De fait, les composés les plus abondants sont la γ -nonalactone et la cis et trans « whisky lactones » (pour les vins élevés en barriques de chêne). De plus, le rôle majeur de la botrytisation sur l'augmentation de la teneur des lactones et la contribution des lactones sur le niveau de typicité des vins liquoreux a été démontré (Sarrazin *et al.*, 2007a) (**Figure 2**).

Du fait que les lactones sont présentes à des teneurs inférieures à leurs seuils de perception, certains auteurs (Ferreira *et al.*, 2004) ont déjà avancé l'hypothèse d'effets de synergie entre ces composés. Ces interactions pourraient expliquer la participation des lactones à l'arôme des vins.

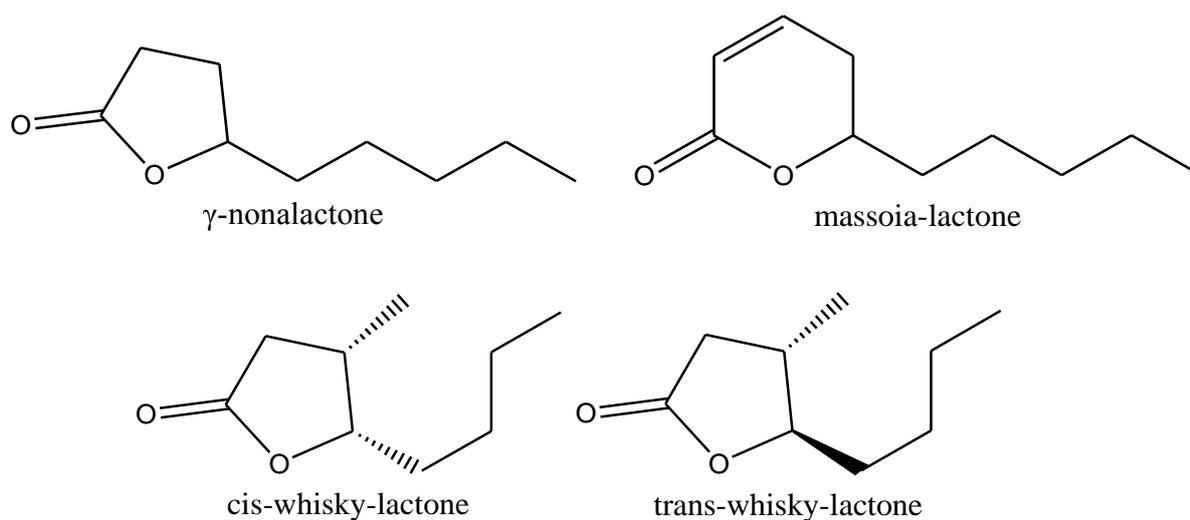


Figure 2 : Principales lactones identifiées dans les vins de pourriture noble (Genovese *et al.*, 2007 ; Sarrazin, 2007)

2.6.2.3 Les furanones

Ces molécules sont formées notamment lors de réactions de Maillard par chauffage des sucres et des acides aminés (Ledl & Schleicher, 1990). Ces réactions sont impossibles à éviter lors de la préparation de la plupart des aliments.

Des furanones ont déjà été décrites dans une large gamme d'aliments comme le bouillon de bœuf (Tonsbeek *et al.*, 1968), le café torréfié (Tressl *et al.*, 1978), le rôti de bœuf (Cerny et Grosch, 1992), les graines de sésame grillées (Schieberle & Grosch, 1994), la croûte de pain (Schieberle & Grosch, 1991), le malt (Schieberle, 1991a), et la bière (Schieberle, 1991a, b).

Dans les vins, la présence de furanones a été déjà décrite dans de nombreux vins : vins blancs secs (Melon de Bourgogne, Muscadet) (Schneider *et al.*, 2003) et vins doux naturels comme ceux de Banyuls et de Rivesaltes (Cutzach *et al.*, 1998), vins de Merlot et de Cabernet Sauvignon (Kotseridis & Baumes., 2000) ainsi que dans des vins rosés (Ferreira *et al.*, 2002a ; Masson & Schleicher, 2009).

Le furanéol, d'abord identifié dans les vins de *Vitis labrusca* (Rapp *et al.*, 1980) semblait également caractériser les vins d'hybrides entre des variétés non- *Vitis vinifera* et des variétés *Vitis vinifera*, tel le Noah (Rapp *et al.*, 1980 ; Guedes de Pinho & Bertrand, 1995) mais il a également été mis en évidence dans des cépages de *Vitis vinifera*.

Les furanones pourraient être potentiellement impliquées dans les notes de fruits rouges des vins rouges (Kotseridis, 1999 ; Piombino *et al.*, 2003 ; Culleré *et al.*, 2004). Par ailleurs, des tests d'omission pratiqués en solutions modèles montrent qu'il existe une action synergique entre le furanéol® et l'homofuranéol (Ferreira *et al.*, 2002a).

Dans les vins liquoreux de pourriture noble, les furanones comme le furanéol®, l'homofuranéol, le norfuranéol et le maltol sont présents en concentrations toujours plus élevées que dans les vins blancs secs des mêmes cépages et généralement au dessus du seuil de perception olfactive (**Figure 3**) (Sarrazin *et al.*, 2007a, Bailly *et al.*, 2009). D'ailleurs, les niveaux de concentrations mesurés en furanéol® et homofuranéol dans les vins sont directement dépendant du niveau de passerillage des raisins (Sarrazin *et al.*, 2007a).

Paradoxalement, Sarrazin *et al.* (2008) rapportent qu'il n'existe pas une corrélation significative entre les teneurs en homofuranéol et norfuranéol et le niveau de typicité de vins liquoreux de Bordeaux. Cette conclusion peut paraître surprenante car ces composés sont

caractérisés par des odeurs de sucre cuit et de confiture, qui peuvent rappeler les nuances confites des vins liquoreux mais cohérente dans la mesure où l'abondance de ces composés dans les vins n'est pas spécifique aux vins issus de raisins de pourriture noble (Sarrazin *et al.*, 2008) et concerne aussi les vins élaborés à partir de raisins passerillés mais généralement non botrytisés (exemple de vins de Jurançon).

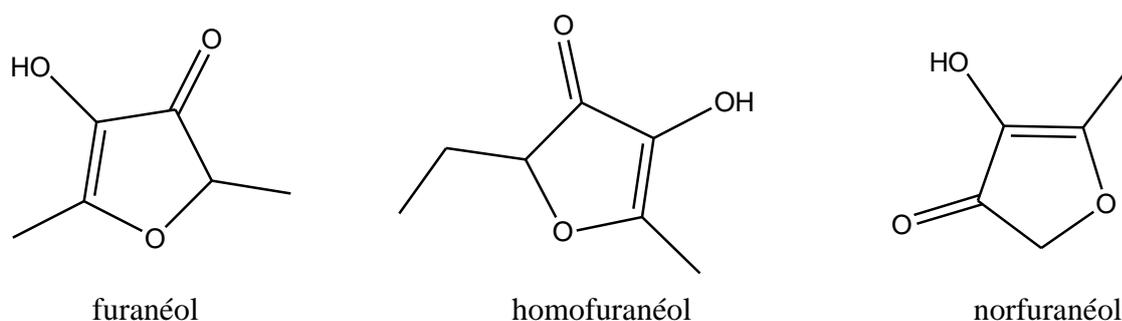


Figure 3 : Composés furaniques responsables des notes « sucre cuit » dans les vins de pourriture noble (Sarrazin *et al.*, 2007a)

2.6.2.4 Les aldéhydes : méthional et phénylacétaldéhyde

Les aldéhydes comme le méthional et phénylacétaldéhyde, sont parmi les composés aromatiques liés à l'oxydation qui ont attiré le plus d'attention, en raison de leur impact et de leur contribution possible à l'arôme de vins rouges et vins blancs secs (Escudero *et al.*, 2000 ; Silva Ferreira *et al.*, 2003a ; Culleré *et al.*, 2007). Ces aldéhydes sont formés par des acides aminés correspondants (méthionine et phénylalanine) via la réaction de Strecker. En théorie d'autres aldéhydes peuvent être formés à la suite de ce mécanisme, comme par exemple, les aldéhydes à chaîne ramifiée tels que le 2-méthyl-propanal à partir de la valine et de 2- méthylbutanal et 3-méthylbutanal à partir de l'isoleucine et de la leucine, respectivement.

Le méthional et le phénylacétaldéhyde figurent parmi les contributeurs de l'arôme des vins de pourriture noble. Les travaux de Sarrazin (Sarrazin, 2007 ; Sarrazin *et al.*, 2007a, 2008) montrent la participation active de ces composés à l'arôme des vins liquoreux. Ainsi, des teneurs en phénylacétaldéhyde plus élevées dans les vins liquoreux que dans les vins blancs secs ont été rapportées. Les deux aldéhydes peuvent compte tenu des valeurs de leur seuil de perception contribuer à l'arôme caractéristique des vins liquoreux de la région

bordelaise (**Figure 4**) et une corrélation significative entre l'abondance de ces composés et l'appréciation du niveau de typicité a été établie ($\rho=0,39$ pour le méthional et $\rho=0,49$ pour la phénylacétaldéhyde) (Sarrazin *et al.*, 2008).



Figure 4 : Composés cités pour leur contribution aux notes miellées dans des vins liquoreux de pourriture noble (Sarrazin *et al.*, 2007a, 2008)

2.6.2.5 Les esters

Dans le vin, les esters ont deux origines distinctes, à savoir les processus fermentaires qui entraînent des estérifications de nature enzymatique et d'autre part la conservation du vin de longue durée qui conduit à des estérifications chimiques ; les deux origines peuvent intervenir dans la synthèse d'un même ester (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012). L'importance de la température et de la valeur du pH du vin sur le niveau synthèse et puis de dégradation par hydrolyse des esters au cours du vieillissement ont été largement étudiés (Marais, 1978 ; Marais & Pool, 1980).

Les esters sont peu représentés dans le raisin, à l'exception de quelques molécules odorantes comme par exemple l'antranilate de méthyle, responsable de l'odeur foxée des raisins et de vins de *Vitis labrusca* (Reynolds *et al.*, 1982).

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.*, 2012). Ils sont présents également dans de nombreux produits fermentés (Sumbly *et al.*, 2010).

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).

Selon Pineau *et al.* (2009), par le biais d'interactions perceptives, le butanoate, l'hexanoate et l'octanoate d'éthyle ont une contribution dans les notes de fruits rouges et fruits frais des vins rouges, alors que le propanoate d'éthyle contribue à la note de fruits noirs et fruits confiturés. Selon Lytra *et al.* (2012a) le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle ne joue pas un rôle direct en tant que composé clé dans l'arôme du vin rouge. En revanche, la contribution indirecte de ce composé à l'arôme fruité du vin rouge a été montrée par une contribution synergique de cet ester à l'amélioration de la perception du caractère fruité des vins rouges. Enfin, il a été clairement démontré que ce composé agissait comme un exhausteur naturel des notes de fruits frais dans les vins rouges.

Enfin, les travaux de Pineau *et al.* (2007), Escudero *et al.* (2007) ont montré l'importance des esters sur les notes fruitées par des biais d'interactions perceptives, principalement avec des dérivés C13-norisoprénoides comme la β -damascénone et l' α -ionone. Des petites variations dans les niveaux de concentration de ces composés dans le vin peuvent augmenter la perception de notes fruitées.

Dans le cas de vins liquoreux de pourriture noble les esters fermentaires tels que le caproate d'éthyle et l'acétate de phényléthyle sont en plus faibles concentrations que dans les vins blancs secs (Sarrazin, 2007). L'activité estérase dégrade de nombreux esters fermentaires (Dubourdiou & Ribéreau-Gayon, 1985).

Des teneurs plus élevées en lévulinate d'éthyle et en succinate de diéthyle (**Figure 5**) ont été mesurées dans les vins liquoreux du bordelais en comparaison avec d'autres types de vins. Sarrazin *et al.* (2008) ont mis en évidence une corrélation significative entre le niveau de typicité des vins de pourriture noble et la teneur en lévulinate d'éthyle (test de corrélation Kendall-Pearson ; $\rho=0,77$).

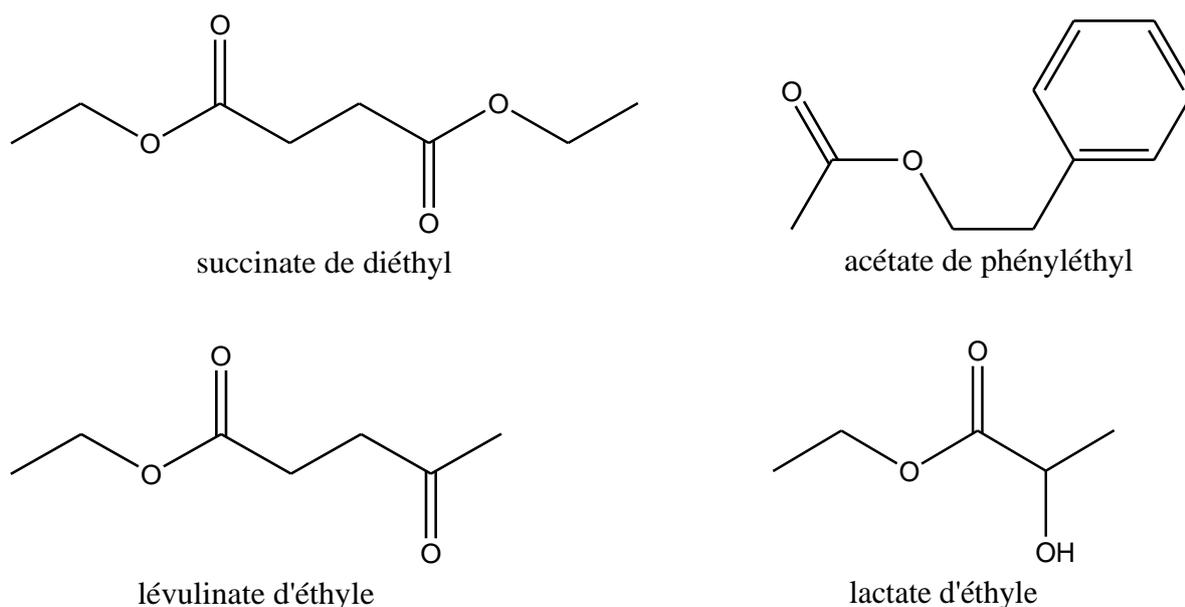


Figure 5 : Différents esters présents dans les vins de pourriture noble (Sarrazin, 2007)

2.7 L'ANALYSE PAR CPG-OLFACTOMETRIE

2.7.1 Contexte général de l'analyse CPG-olfactométrique

Les progrès dans les techniques d'analyse au cours des dernières décennies ont conduit à de longues listes de substances volatiles déterminées dans les aliments (Maarse *et al.*, 1992). Parmi tous ces composés, moins de 5% en moyenne contribuent à l'arôme des aliments (Grosch, 2001) et sont appelés composés d'impact. Le reste des composés fait partie du milieu physico-chimique au sein duquel s'expriment les composés d'impact. Par conséquent, la distinction entre les composés actifs et la gamme complète des composés volatils présents dans un aliment est une tâche importante dans l'analyse de la flaveur.

Parmi toutes les analyses une approche intéressante est l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection olfactométrique. Il s'agit d'une méthode de chromatographie en phase gazeuse en utilisant comme détecteur le nez humain. La chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O) a été proposée pour la première fois par Fuller *et al.* (1964). L'avantage de cette méthode est qu'elle associe la chromatographie en phase gazeuse et l'analyse sensorielle partant de ce constat que la plupart

des détecteurs « physiques » ne sont pas aussi sensibles que le nez humain pour de nombreux composés actifs d'odeurs (Acree *et al.*, 1984). Ainsi, l'expérience montre que de nombreux composés volatils existent à des concentrations très faibles et leur impact sensoriel est dû à des composés présentant des seuils de perception extrêmement faibles. Par conséquent, le profil chromatographique obtenu ne reflète pas généralement les composés impliqués dans le profil aromatique d'un aliment (Blank, 1997).

2.7.2 Les différentes méthodes d'analyse par CPG-olfactométrie

2.7.2.1 Les méthodes des dilutions

Les techniques de dilution ont été développées dans le but de simplifier la méthode utilisée pour la détermination d'une unité d'intensité des odeurs (Acree *et al.*, 1984 ; Ullrich & Grosch, 1987). Le but de la technique consiste à déterminer la puissance de l'odeur présentée dans l'extrait. La méthode donne un ordre de classement des composés volatils et donne des indications par rapport à la priorité d'identification des différents composés (Grosch, 1993). Des dilutions successives de l'extrait total sont analysées jusqu'à ce qu'aucune odeur ne soit détectée. Plusieurs injections sont nécessaires pour atteindre une dilution de l'extrait d'arôme dans laquelle les zones odorantes ne sont plus détectées.

Les deux méthodes de dilution (CharmAnalysis et AEDA) sont basées sur le principe du seuil de perception. En AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis), le facteur de dilution (valeur FD) est simplement le dernier facteur de dilution ayant permis le repérage d'une zone odorante. L'aromagramme AEDA est graphiquement présentée par la courbe $\log FD=f(Rt)$ (Blank *et al.*, 1989).

Une variante de la méthode AEDA est la méthode AECA qui a été proposée par Kerscher & Grosch (1997) pour limiter les pertes de composés d'arôme lors de l'étape de concentration. Pour réaliser l'AECA, le premier extrait analysé est celui récupéré directement après extraction, sans étape de concentration préalable. L'extrait subit ensuite des concentrations successives qui sont, à leur tour, analysées par CPG-O.

Plus récemment, Ferreira *et al.* (2002b) ont proposé une méthode de dilution adaptée de l'AEDA. Cette méthode consiste à travailler avec plusieurs sujets. Chaque valeur de FD est

corrigée par déplacement de $R^{+0.5}$ à partir de la dernière dilution R^p où l'évaluateur perçoit l'odeur.

En Charm Analysis, les dilutions sont présentées dans un ordre aléatoire afin d'éviter les biais liés à la connaissance des échantillons. Le sujet note le début et la fin de la perception d'odeur (durée de l'odeur) avec un descripteur sensoriel. La valeur CHARM (c) s'exprime de la manière suivante : $c = d^{n-1}$, n étant le nombre des réponses coïncidentes et d le facteur de dilution. Graphiquement on intègre la courbe $\log c = f(Rt)$.

Les deux méthodes constituent un excellent outil pour déterminer la majorité des composés clés de l'arôme dans des matrices complexes (Grosch, 2001). La méthode AEDA a été très appliquée à l'étude de différents types de vins produits à partir des cépages comme le Gewürztraminer et le Scheurebe (Guth, 1997), le Merlot et le Cabernet Sauvignon (Kotseridis & Baumes, 2000), le Grenache (Ferreira *et al.*, 2002a), le Maccabéo (Escudero *et al.*, 2004), le Chardonnay (Buettner, 2004), le Sémillon et Sauvignon blanc (Sarrazin, 2007). Concernant la méthode CHARM, elle a été appliquée aux vins de Chardonnay (Laurent *et al.*, 1994 ; Moio *et al.*, 1994), de Riesling (Chisholm *et al.*, 1994) et de Gewürztraminer (Ong & Acree, 1999).

Les inconvénients majeurs pour ces méthodes concernent d'abord la difficulté à solliciter plusieurs évaluateurs, comme il est recommandé, parce que les analyses sont très longues. Un autre aspect est lié au fait qu'avec l'AEDA, les composés les plus importants sont ceux perçus au niveau de dilution le plus élevé. Or, ce principe a été largement critiqué par Frijters (1978). On suppose ainsi que la réponse à un stimulus d'odeur est linéaire avec la dilution et que tous les composés ont des pentes de réponse identiques à concentration croissante. Mais cela suppose qu'il existe une relation linéaire entre l'intensité perçue d'un composé et sa concentration, ce qui est invalidé à la fois par les travaux de Fechner et la loi de Stevens (Sauvageot, 1990).

2.7.2.2 La méthode de fréquences de détection

Cette méthode a d'abord été proposée par Roozen et ses collaborateurs (Linssen *et al.*, 1993) puis développée par Pollien *et al.* (1997). Elle repose sur le calcul des fréquences de détection d'odeur.

Pour appliquer une telle méthode, l'extrait est analysé en l'état, ce qui nécessite de faire appel à un plus grand nombre de sujets que dans le cas des méthodes de dilution. Pollien *et al.* (1997) ont estimé que le nombre minimal de sujets était de 6 pour que l'écart entre les mesures d'un même produit soit inférieur à 20%. Un aromagramme, appelé profil Nif, représentant le nombre cumulé de détections en fonction du temps de rétention, peut ensuite être construit.

La méthode des fréquences de détection ne nécessite pas d'entraînement particulier des sujets, si ce n'est une familiarisation avec le dispositif olfactométrique. Enfin cette technique permet d'obtenir les résultats les plus représentatifs d'une population donnée car elle minimise les risques d'absence de détection liés aux anosmies ou hyposmies (Priser, 1997)

2.7.2.3 La méthode post-intensité

Cette méthode consiste à évaluer l'intensité des odeurs sur une échelle de valeur juste après l'élution chromatographique du composé. Cette méthode n'a pas été beaucoup signalée dans la littérature. En 2001, van Ruth & O'Connor, ont montré une relation linéaire entre le logarithme de la concentration du stimulus et l'intensité perçue sur un panel de huit sujets. Cependant, la tâche demandée est difficile et il existe une grande variabilité entre les évaluateurs, bien qu'ils soient entraînés.

Les quelques références sur cette méthode concernent Drawert & Christoph (1984) qui ont signalé l'influence de la largeur et de la hauteur des pics sur les scores d'intensité d'odeur. L'utilisation de l'échelle diffère considérablement entre les évaluateurs. Pour limiter la variation, l'utilisation des références est envisageable. Cependant, il est pratiquement impossible de fournir une référence pendant un cycle CPG-O. Les plus récentes applications de cette méthode ont porté sur le vin blanc (Lopez *et al.*, 2003) et le fromage (Frank *et al.*, 2004).

2.7.2.4 Les méthodes temps-intensité.

McDaniel *et al.* (1989) ont développé une méthode, appelée aussi Osme, qui permet aux sujets d'évaluer l'intensité de l'odeur perçue au cours du temps. Le sujet effectue plusieurs flairages d'un même extrait et évalue en temps réel l'intensité de l'odeur à l'aide d'un potentiomètre avec une échelle de 15 cm comprenant 16 points (0 = pas d'odeur, 7 = intensité modérée et 15 = intensité extrême). Cette méthode a été utilisée pour estimer le niveau d'intensité de la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one responsable d'une odeur de buis, dans les extraits de vins de Sauvignon (Darriet *et al.*, 1991).

Ceci permet de construire un osmogramme représentant l'intensité perçue en fonction du temps de rétention. Il est aussi possible d'utiliser la technique du Finger Span (Etiévant *et al.*, 1999). Dans ce cas, au lieu de traduire l'intensité du stimulus olfactif sur une échelle de définie, le sujet est amené à convertir l'intensité perçue en une réponse kinesthésique, en l'occurrence l'importance de l'écartement des doigts. Malgré les différences interindividuelles et les mauvaises performances individuelles des sujets, Etiévant *et al.* (1999) montrent que la méthode donne des résultats satisfaisants à condition de considérer le résultat collectif.

2.7.3 Les nouvelles applications instrumentales

La compréhension des paramètres gouvernant l'interaction des composés volatils en mélange avec le système olfactif, au cours de la perception sensorielle, est très importante pour la science des aliments et des boissons. Aussi, compte tenu de la complexité de l'arôme des aliments et du vin, l'analyse des composés volatils doit reposer sur une série de techniques sophistiquées. Grâce au développement de l'analyse instrumentale, particulièrement dans le domaine de la chromatographie en phase gazeuse couplée à différents modes de détection, beaucoup de composés volatils dans le vin ou les aliments ont pu être identifiés. Malheureusement, l'impact sensoriel de ces composés volatils (en mélange) n'a pas été aussi largement évalué, alors que l'utilisation du nez humain comme un détecteur sensible à la chromatographie a été largement appliquée. En même temps, de nombreuses publications sur l'arôme des aliments considèrent l'analyse par des techniques instrumentales très élaborées d'une large diversité de composés volatils mais souvent sans identifier les composés d'impact. C'est pourquoi l'un des problèmes majeurs dans la recherche sur les arômes est de sélectionner les composés qui contribuent de manière la plus significative lors de la perception sensorielle.

Avec la technique de CPG-O, les composés volatils sont évalués seuls au fur et à mesure de leur élution chromatographique. Aussi, bien que permettant de souligner la pertinence de certains composés (type d'odeur, niveau d'intensité), cette approche ne fournit pas d'informations sur leur comportement en mélange vis à vis de la perception de l'arôme. Des essais de recombinaison de l'arôme et associés à des séances d'évaluation sensorielle doivent donc être développés pour sélectionner correctement les composés d'impact. En outre, des corrélations entre les composés présents et les données sensorielles doivent être réalisées pour établir l'importance de ces composés.

La plupart des techniques chromatographiques permettent seulement d'évaluer la qualité aromatique des composés individuels, plutôt que des mélanges de composés. Cependant, l'arôme d'un mélange a souvent des qualités distinctes de celles de chacun de ses composants individuels (Laing & Francis, 1989) et peut ainsi présenter des tonalités aromatiques qui n'existent pas chez ses composants (Le Berre *et al.*, 2008).

2.7.3.1 La technique de CPG-préparative

Cette technique a été initialement développée pour la collecte des composés purs en teneur de l'ordre du $\mu\text{g/L}$ dans une matrice très complexe (Eglinton *et al.*, 1996 ; Currie *et al.*, 1997 ; Uchida *et al.*, 2000). Brièvement, dans la CPG-préparative, l'extrait organique contenant des composés d'intérêt est injecté puis il y a séparation des composés sur une colonne capillaire au fur et à mesure que la température du four s'élève. Les composés séparés sont ensuite collectés via un système de collection éventuellement thermo-régulé.

La technique de la CPG-préparative, était initialement utilisée à l'isolement des alcanes des acides gras, des stérols, des triterpénols ou des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les échantillons archéologiques et environnementaux pour des mesures de ^{14}C ou des ratios d'isotopes d'hydrogène (Eglinton *et al.*, 1996 ; Currie *et al.*, 1997 ; Uchida *et al.*, 2000). Cependant, des travaux récents ont montré l'intérêt de l'utilisation de cette technique pour évaluer la composante aromatique dans différentes matrices comme le café (Hasselbarth *et al.*, 2007), le vin (Stamatopoulos & Darriet, 2012) et la lavande (Johnson *et al.*, 2012).

L'analyse de fractionnement et de recombinaison d'arôme est une nouvelle approche analytique pour estimer la contribution de composés d'impact dans un système aromatique

complexe. Le développement de cette technique a été inspiré par la nécessité de simplifier les approches traditionnellement utilisées. Cette technique offre de nombreux avantages. Elle s'appuie sur l'analyse directe des extraits tout en permettant la mise en place facile de tests d'omission (omission partielle ou complète). Le système, à partir d'un extrait organique plus ou moins purifié, offre ainsi la possibilité de mettre en place l'isolement d'un seul composé sans modifier le reste du profil aromatique afin de déterminer les caractéristiques sensorielles d'une zone odorante ou, inversement, de déterminer les caractéristiques sensorielles de l'extrait complet sans la zone odorante considérée.

Des études ont ainsi été faites sur l'arôme du café et de nouvelles perspectives concernant la pertinence des composés d'impact ont été reportées (Hasselbarth *et al.*, 2007). Cette technique a également permis d'identifier des zones odorantes et par la suite des composés dits « clés » sur la perception globale de la matrice. Cette technique peut être un outil puissant pour l'étude des arômes du vin et pour l'identification de composés «clés» pour l'industrie des boissons. De plus, la quantification des composés présents dans l'extrait n'est pas un préalable à la réalisation de ces tests d'omission (Hasselbarth *et al.*, 2007).

2.7.3.2 L'application de la CLHP-semi-préparative au fractionnement d'extraits de vins

La technique de la CLHP semi-préparative appliquée à l'appréciation sensorielle d'extraits de vins a été d'abord développée par Ferreira *et al.* (1999). L'objectif principal de ce travail était d'obtenir un outil facile à utiliser, robuste, efficace et rapide, consacré à l'analyse qualitative des arômes dans un extrait de vin.

Récemment, plusieurs travaux sur l'arôme du vin ont montré des résultats assez encourageants pour l'identification des composés d'impact et concernant la mise en évidence d'interactions perceptives remarquables (Pineau *et al.*, 2009 ; Pons *et al.*, 2008 ; Lytra *et al.*, 2012b). Le fractionnement d'un extrait de vin par CLHP sur colonne de silice greffée C18 est une méthode particulièrement adaptée à l'étude des arômes des vins. Elle répond à l'objectif de « purification » de l'extrait brut de vin, en isolant, dans des fractions spécifiques de polarité proche à partir de l'extrait complexe initial de vin. Par ailleurs, les fractions obtenues étant en phase hydro-alcoolique, le travail de sélection et de description des notes aromatiques qui composent ces fractions est grandement facilité (Pineau, 2007). Si l'ensemble de la méthode d'extraction puis de fractionnement de l'extrait brut ne permet pas de conserver

totalemment l'arôme initial du vin, les notes dominantes qui le caractérisent sont retrouvées intègres au sein des différentes fractions. D'ailleurs, l'identification de composés d'impact a aussi été rendu possible par l'utilisation de la technique de CLHP semi-préparative (Pons *et al.*, 2008 ; Nikolantonaki & Darriet, 2011 ; Schuttler *et al.*, 2013).

La méthode de fractionnement a aussi permis un très bon isolement de fractions fruitées qui sont composées d'esters éthyliques et d'acétates d'alcools supérieurs. L'analyse sensorielle, et en particulier la réalisation de tests triangulaires, a permis de montrer qu'il est possible d'obtenir des reconstitutions aromatiques présentant des caractères fruités proches (fruits rouges et noirs, frais et confiturés) de ceux des vins originaux mais cependant pas de reproduire rigoureusement l'arôme du vin dans son intégralité (Lytra *et al.*, 2012b). Les mêmes auteurs ont montré des interactions perceptives particulières comme des effets de contributions marquées ou de masquage pour certains descripteurs. Lorsqu'une fraction spécifique est présente dans la reconstitution aromatique fruitée, les intensités moyennes des notes de fruits noirs et de fruits frais sont significativement plus élevées.

2.8 ANALYSE SENSORIELLE

2.8.1 Introduction

En Œnologie la dégustation de vins est une pratique aussi ancienne que son élaboration. L'évaluation sensorielle permet d'apprécier les caractéristiques sensorielles déterminant l'acceptabilité des consommateurs ainsi que leur influence sur les préférences des consommateurs. 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. Selon la problématique posée, l'analyse sensorielle peut prendre différentes formes, chacune permettant de répondre à un problème spécifique et requérant des outils différents (Martin & de Revel, 1999).

2.8.2 Les épreuves sensorielles

2.8.2.1 *Epreuves discriminatives*

Les épreuves discriminatives ou tests de différences sont utilisées pour examiner des produits présentant de faibles différences sensorielles. Le principe des épreuves discriminatives repose sur la présentation de plusieurs échantillons parmi lesquels certains sont identiques (répétitions) et d'autres sont différents. Le dégustateur est invité à détecter les produits différents. Une réponse étant imposée au sujet, ces épreuves sont dites à « choix forcé » ou 3-AFC.

L'épreuve dite "triangulaire" est l'épreuve discriminative la plus utilisée (Martin & de Revel, 1999). 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). Pour un nombre de réponses total et un risque donné, le nombre de réponses justes nécessaires pour conclure à une différence significative entre les produits testés est évalué par le biais de leur conformité à une loi Binomiale.

2.8.2.2 *Epreuves descriptives*

Les épreuves descriptives, contrairement aux preuves discriminatives étudient la nature des différences. Par conséquent, ces épreuves s'appliquent à des produits présentant des différences sensorielles nettement perceptibles.

Deux types d'épreuves descriptives sont habituellement considérés : La première se focalise sur un seul critère sensoriel. Elle ne nécessite qu'un panel entraîné sur ce seul critère, ce qui est donc plus simple à mettre en place. La deuxième, basée sur le profil sensoriel, permet d'évaluer plusieurs critères sensoriels afin de caractériser un ensemble de perceptions. L'obtention d'un profil sensoriel est un processus complexe nécessitant un panel compétent et entraîné.

2.8.2.3 Les épreuves hédoniques

Le but de l'évaluation hédonique est de rechercher les sources de satisfaction pour le consommateur sur différents aspects du produit. Elle permet de mieux appréhender le comportement des consommateurs non avertis auxquels elle s'adresse. Pour ce faire, il est impératif d'effectuer ce test sur des consommateurs ordinaires en ne cherchant pas à effectuer une analyse systématique des défauts (Martin & de Revel, 1999).

2.8.3 Les facteurs conditionnant les résultats d'une analyse sensorielle

Si l'être humain possède une excellente capacité de détection et de discrimination des odeurs, il éprouve les plus grandes difficultés à identifier des composés aromatiques spécifiques (Richardson & Zucco, 1989), et ceci d'autant plus que la complexité de la source odorante augmente.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la capacité d'identification (Béguin & Costermans, 1994). D'abord la familiarité avec l'échantillon proposé (Engen & Pfaffmann, 1960 ; Summer, 1962 ; Desor & Beauchamps, 1974 ; Wood & Harkins, 1987) mais aussi le degré d'expertise ou d'entraînement des sujets (Desor & Beauchamps, 1974 ; Cain, 1979 ; Schemper *et al.*, 1981 ; Wood & Harkins 1987) sont des facteurs primordiaux.

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

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.

L'environnement et les conditions dans lesquelles s'effectue la dégustation déterminent en partie la validité des résultats. En offrant des conditions constantes et contrôlées (selon les directives générales AFNOR NFV09-105 de 2001) la salle de dégustation doit permettre de minimiser les biais dus à par exemple à des odeurs parasites ou au bruit. Le verre joue un rôle sur l'échange des molécules entre le liquide et l'atmosphère et donc le système olfactif. Comme l'espace de tête peut être modifié en fonction de la géométrie du verre, il existe des

verres normalisés pour l'analyse sensorielle (verres INAO normalisés suivant la norme ISO 3591 : 1977) qui sont 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. Il est donc logique d'avoir une température de dégustation variable en fonction du type vin mais homogène pour un type de vin donné (Peynaud & Blouin, 2006).

2.9 INTERACTIONS PERCEPTIVES

2.9.1 Introduction

L'arôme d'un vin, avec sa finesse, sa complexité et son caractère unique, constitue une source de grand plaisir pour le dégustateur. Les arômes variétaux en particulier peuvent présenter une large diversité de nuances aromatiques depuis les notes florales des vins de Muscat, à celles de buis, feuille de tomate et fruit tropicaux des vins de Sauvignon blanc, à celles de poivron vert, de cassis et fumées des vins de Cabernet Sauvignon ou la violette, les arômes de viande des vins de Syrah.

Une telle palette aromatique est associée au départ à des composés volatils, souvent très nombreux dans l'espace gazeux au-dessus du verre de vin. Ces composés constituent des stimuli pour notre système olfactif, d'abord inconscients au niveau du premier relais de la perception olfactive, l'épithélium olfactif, avant d'être transformés en influx nerveux dans le bulbe olfactif et devenir des sensations dans le champ de la conscience. La diversité des nuances aromatiques perçues ne résulte pas seulement d'une somme algébrique des composés volatils qui seraient tous considérés individuellement mais d'une réponse combinatoire produite par notre cerveau (Shepherd *et al.*, 2006).

Cependant tous les composés volatils n'ont pas la même contribution à l'arôme du vin. Certains d'entre eux, présents à l'état de traces, de l'ordre de ng/L, jouent un rôle majeur dans l'arôme, alors que d'autres composés, parfois à des niveaux de concentrations de plusieurs dizaines de mg/L interviennent de façon mineure. Cette situation paradoxale résulte de la spécificité de la détection de notre système olfactif. Bien sur, le niveau d'abondance des composés va influencer généralement le niveau d'intensité perçue. Mais il est aussi important de souligner que le contexte de la dégustation, la sensibilité individuelle des dégustateurs aux

composés volatils, particulièrement variable d'un individu à l'autre, peuvent aussi influencer la perception sensorielle (Tempère *et al.*, 2011).

2.9.2 Exemples d'interactions perceptives dans le vin

Ainsi, à la contribution des composés « clés » directement responsables de notes aromatiques on intègre celle d'autres composés volatils, qui du fait de leur nature ou de leur niveau de concentration, contribuent à la perception olfactive par des interactions perceptives au niveau de notre système sensoriel. Par exemple, les composés volatils participent à l'arôme au travers de phénomènes de masquages (diminution de l'intensité perçue, bien connu pour les défauts olfactifs), de synergie (accroissement de l'intensité ou de la complexité perçue, éventuellement élaboration de nouveaux accords).

Un verre de vin contient plusieurs dizaines, voire des centaines, de composés volatils différents. Son odeur peut être décrite avec beaucoup d'adjectifs, qui font référence à la présence de composés chimiques considérés seuls ou en mélange. Ainsi, les propriétés chimiques et physiologiques des mélanges d'odeurs et la façon dont ils donnent lieu à des propriétés perceptives constituent l'une des questions les plus difficiles dans la recherche sur les arômes. Pour situer le sujet, au départ, chaque composant d'un mélange d'odeur possède des propriétés physiques spécifiques qui affectent sa volatilité, la rapidité avec laquelle il se diffuse dans l'air puis sur les muqueuses, et la manière dont il peut se lier aux récepteurs olfactifs simples. Dans les mélanges de composés odorants, la diversité des perceptions sensorielles est le résultat des différentes interactions perceptives à la fois qualitatives (qualité de l'odeur) et quantitatives (intensité de l'odeur) (Laing *et al.*, 1984). Ces aspects sont définis de diverses manières selon différents auteurs (Cain & Drexler, 1974 ; Berglund *et al.*, 1976). Cependant, les interactions perceptives entre plusieurs composants volatils en combinaison restent aujourd'hui presque impossibles à prédire dans une telle matrice aussi complexe que le vin, dans lequel la perception globale ne peut être prédite à partir de la somme des perceptions des composés individuels.

Selon Godinot (1999), alors que certains composés dans un mélange odorant peuvent prédominer ou imposer leurs qualités sur les mélanges, d'autres ont tendance à disparaître et devenir non identifiables. Même dans des mélanges binaires, la perception qualitative et quantitative n'est pas aussi simple. Ainsi, le modèle prédictif d'Olsson, stipulant que

l'intensité perçue et la qualité d'un mélange peuvent être prédites à partir de l'intensité perçue de ses composants présentés séparément a été réfuté (Laing *et al.*, 1984 ; Berglund & Olsson, 1993 ; Olsson, 1994 ; Cain *et al.*, 1995 ; Atanasova *et al.*, 2004). Compte tenu de l'existence de ces interactions perceptives, l'approche instrumentale de la chromatographie en phase gazeuse-olfactométrie (CPG-O) (Guth, 1997) seule, est incapable d'évaluer complètement l'impact organoleptique d'un composé dans le mélange complexe que constitue le vin en particulier si ce composé est associé à une appréciation qualitative (Lorrain *et al.*, 2006 ; Barbe *et al.*, 2008) et d'autres études sensorielles dans des matrices complexes sont nécessaires. De nombreux modèles ont tenté de décrire le comportement de molécules différentes dans les mélanges, mais aucun modèle n'est actuellement capable d'expliquer comment certains composés aromatiques interagissent dans des mélanges (Berglund *et al.*, 1976 ; Patte & Laffort, 1979 ; Frijters, 1987 ; Cain *et al.*, 1995 ; Atanasova *et al.*, 2005).

Le thème des interactions perceptives et en particulier de la modulation des nuances d'odeurs de certains composés clés par d'autres est actuellement un large sujet de discussion dans le domaine de l'œnologie. Des exemples d'interactions perceptives dans le vin ont été observés au début des années 70 par Ribéreau-Gayon *et al.* (1975), démontrant des effets synergiques (additifs) entre monoterpènes. Ainsi, un mélange constitué de 8 composés terpéniques a été établi comme présentant un seuil de perception inférieur au seuil de perception du plus faible des composés terpéniques du mélange. Ces observations ont été maintes fois répétées au sein de l'Unité de recherche Œnologie, concernant les composés terpéniques.

Plus tard Escudero *et al.* (2004) ont montré à l'aide de tests omissions que la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one et de 2-méthyl-3-furanthiol, à des concentrations légèrement au-dessus de leurs valeurs de seuil, peuvent avoir un impact important sur la perception aromatique. Les mêmes auteurs ont démontré que l'addition de sulfure de diméthyle en dessous de son seuil de perception pouvait induire une complexité aromatique de l'arôme global (Escudero *et al.*, 2007). Des effets additifs de composés possédant des OAV faibles (i.e. Odor Activity Value : rapport du niveau de concentration sur la valeur seuil) ont également été démontrés dans les vins botrytisés avec la contribution, selon un principe d'additivité de trois thiols volatils (3-sulfanylhexanol, 3-sulfanylpentanol, 3-sulfanylheptanol) sur la perception globale du vin (Sarrazin *et al.*, 2007b). Dans le cas de vin rouges, Pineau *et al.* (2007) ont révélé que la β -damascénone a une contribution plus indirecte que directe sur l'arôme du vin en ce sens que paradoxalement le seuil de perception de la β -damascénone dans un vin rouge (5 à 7 $\mu\text{g/L}$) est

plus de 1000 fois supérieur à la valeur dans l'eau (2ng/L) alors que la présence de composés peut diminuer le niveau de seuil de perception du linalol (Pineau *et al.*, 2007; Darriet *et al.*, 2012) et du cinnamate d'éthyle (Pineau *et al.*, 2007).

Les récents travaux de Pineau *et al.* (2009) ont souligné l'importance des interactions perceptives dans l'arôme fruité global du vin rouge en montrant que parmi la quinzaine d'esters, constituants des fractions aromatiques fruitées des vins rouges, des variations parfois infimes de certains d'entre eux se traduisent par une modification de l'odeur des vins. Par exemple, une augmentation de concentration aussi faible que 1,3% de la valeur du seuil de perception du 2-méthylpropanoate d'éthyle peut être perçue dans de vin rouge désaromatisé. Concernant le vin rouge, des nombreuses études montrent qu'un grand nombre de composés participent à l'arôme fruité. Des furanones, certains C13-norisoprénoides, lactones ou encore des composés soufrés jouent un rôle sur l'expression aromatique fruitée au niveau qualitatif et quantitatif. Les études sur le caractère fruité des vins rouges soulignent l'importance d'esters et acétates sur la perception de l'arôme fruité des vins rouges (Etiévant, 1991 ; Pineau *et al.*, 2009 ; Falcao *et al.*, 2012 ; Lytra *et al.*, 2012a ; Lytra *et al.*, 2012b).

La littérature rapporte que d'autres composés en plus des esters et acétates, qui ne sont pas présentent pas nécessairement un arôme fruité, peuvent avoir un impact important sur l'arôme fruité global de vin. Ainsi, le furanéol et l'homofuranéol, qui rappellent le caramel, semblent avoir un effet stimulant dans la perception des arômes de fruits rouges (Kotseridis & Baumes, 2000). En outre, certains thiols (3-sulfanylhéxanol) (Bouchilloux *et al.*, 1998 ; Blanchard *et al.*, 2004) et d'autres composés sulfurés volatils (sulfure de diméthyle) peuvent également affecter la perception des arômes fruités des vins rouges (Anocibar-Beloqui *et al.*, 1996 ; Segurel *et al.*, 2004 ; Escudero *et al.*, 2007).

Certains C13-norisoprénoides, comme la β -damascénone, sont généralement considérés comme affectant l'arôme fruité des vins rouges (Escudero *et al.*, 2007 ; Pineau *et al.*, 2007). Puis, très récemment, il a été mis en évidence le rôle direct du diacétyl, ainsi que le rôle indirect de acétoïne, l'acide acétique, et γ -butyrolactone sur l'expression fruitée dans un mélange fruité complexe (Lytra *et al.*, 2012b). Enfin 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 (Lytra *et al.*, 2013).

3 MATERIELS & METHODES

3.1 ANALYSES INSTRUMENTALES

3.1.1 Vins utilisés

Les vins utilisés sont des vins de millésimes variés, issus des différentes appellations de la région bordelaise (Sauternes, Barsac et Loupiac). De plus, des vins liquoreux d'autres régions (Jurançon, Pacherenc du Vic Bilh) ont été analysés. Des vins blancs secs de la région bordelaise et issus des mêmes cépages (Sémillon et Sauvignon blanc) ainsi que d'autres vins blancs secs (Alsace, Bourgogne) ont été aussi étudiés.

3.1.2 Produits chimiques employés

Les substances chimiques volatiles utilisées ont été fournies par les firmes Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France), excepté le massoia lactone (Robertet, Grasse, France), le 3-sulfanylhéxanol (Lancaster, Bischheim, France) et le 2-nonen-4-olide qui a été gracieusement fourni par Dr Eric Frérot, société Firmenich (Genève, Suisse).

Les solvants organiques nécessaires aux extractions ont été fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France) et Prolabo (Fontenay sous Bois, France) ont été utilisés sans purification supplémentaire, excepté l'éthanol (analytical grade, 99,97%) qui doit être distillé au préalable avant utilisation pour l'élimination des impuretés olfactives. Les gaz utilisés comme vecteurs pour la séparation chromatographique présentent une pureté industrielle (Air Liquide, France).

3.1.3 Techniques d'extraction

3.1.3.1 Extraction non-sélective de composés odorants

3.1.3.1.1 Utilisation de l'extrait pour les analyses en CPG-O, pCPG-O et CLHP-semi préparative

A partir de 750 mL de vin, on réalise trois extractions successives avec 60, 60 puis 40 mL de dichlorométhane (99%, Prolabo, Fontenay sous Bois, France) dans une fiole de 2 L. Après chaque ajout de solvant, on place le mélange sous agitation magnétique à 600 rpm pendant 10 minutes. Puis, on sépare la phase aqueuse de la phase organique à l'aide d'une ampoule à décanter de 2 L. Une fois la partie aqueuse complètement éliminée par prélèvement avec une pipette Pasteur, on sèche la phase organique avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4). L'extrait obtenu est alors concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à environ 5 mL. Celui-ci fonctionne sous un vide (environ 100 mbar), par rotation dans un bain à 20°C.

L'extrait organique est ensuite concentré jusqu'à un volume final de 750 μL sous flux d'azote (environ 100 mL/min). Enfin, on s'assure par tests olfactifs, à l'aide de mouillettes en cellulose que l'extrait présente bien les notes aromatiques attendues.

3.1.3.1.2 Dosage d'aldéhydes (méthional, phénylacétaldéhyde) et furanones (furanéol®, homofuranéol, norfuranéol)

A 100 mL d'échantillon versé dans une fiole, on ajoute 100 μL de 3-octanol en solution hydroalcoolique (1/1, v/v) à 100 mg/L et 100 μL d'ethylmaltol en solution hydroalcoolique (1/1, v/v) à 50 mg/L. Puis on réalise une extraction des composés volatils par dichlorométhane (10, 5 puis 5 mL) dans une fiole de 200 mL sous agitation magnétique à 600 rpm pendant 10 minutes. Les phases organiques sont séparées dans une ampoule à décanter puis récupérées et rassemblées pour être séchées sur sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), et concentrées sous flux d'azote inerte, jusqu'à un volume de 500 μL .

3.1.3.2 Extraction sélective de thiols volatils

7,5 mL d'une solution d'acide *p*-hydroxymercuribenzoate de sodium (pHMB) (2 mM), préparée dans un tampon TrizmaR base [2-amino-2-(hydroxyméthyl)-1,3-propanediol] sont ajoutés à un volume de 50 mL de vin préalablement centrifugé (5 minutes à 6000rpm) et contenant 1,2 nmol d'étalon interne [1-méthoxy-3-méthyl-3-butanethiol (1, 3,3MMB)] (0,1 M ; pH 10). Le pH est ajusté à 7 avec une solution de soude (NaOH, 10N) et le complexe thiols volatils - pHMB se réalise sous agitation magnétique à 600 rpm pendant 10 minutes.

Les adduits pHMB/thiols sont fixés sur résine échangeuse d'anions (Dowex 1X2 ; 50-100 mesh : 1,5 x 3 cm) réactivée à l'acide chlorhydrique (0,1 M) en faisant percoler le vin contenant le pHMB à un débit d'environ 2 mL/min. La colonne est ensuite lavée par 50 mL d'une solution tampon d'acétate de sodium (0,1 M ; pH 7).

Les thiols volatils sont libérés par 60 mL d'une solution de cystéine (Cystéine HCL, origine) (pH 7 ; 35 mM). 500 µL d'acétate d'éthyle (CHROMASOLV®, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) sont ensuite additionnés dans l'éluât ainsi récupéré. Puis, celui-ci est extrait deux fois par du dichlorométhane (4 puis 3 mL) pendant 10 minutes à 900 rpm. Les deux phases organiques sont rassemblées et séchées au sulfate de sodium anhydre, et concentrées sous flux d'azote inerte, jusqu'à 50 µL.

3.1.3.3 Extraction sélective de lactones

3.1.3.3.1 A partir de moût

Un volume de 100mL de moût est supplémenté avec 100 µL de 3-octanol et de 2-octanol en solution hydroalcoolique (1/1, V/V) à 10 mg/L, ainsi que 5 gr de (NH₄)₂SO₄. On place le mélange sous agitation à 600 rpm pendant 10 minutes. Puis les composés organiques sont extraits par le dichlorométhane (8,8, et 5 mL) sous agitation magnétique à 600 rpm pendant 10 minutes. Les phases organiques sont récupérées et rassemblées pour être séchées sur Na₂SO₄ anhydre, puis concentrées sous flux d'azote inerte, jusqu'à un volume de 500 µL.

3.1.3.3.2 A partir de vin (Ferreira *et al.*, 2004)

Une cartouche préremplie « Bond Elut-ENV » (Varian, les Ulis, France ; 200mg ; 3mL) est placée sur le system Vac Elut (Varian) qui fonctionne sous une vide d'environ -20kPa. La cartouche est conditionnée en percolant 2 mL de méthanol et 4 mL d'eau ultrapure (MilliQ, Millipore). Un volume de 50 mL de vin est ensuite percolé sur la cartouche à un débit de 2 mL/min. Puis la cartouche est rincée avec 20 mL d'une solution méthanol/eau 40:60 (V/V) contenant 1% NaHCO₃ (V/V ou W/V). La cartouche est séchée pendant 30 minutes par circulation d'air. Les analytes sont désorbés en éluant avec 1,8 mL de dichlorométhane. 50 µL de 2-octanol à 10 mg/L sont ajoutés à l'extrait récupéré. La phase organique récupérée est séchée sur Na₂SO₄ anhydre puis concentrée sous flux d'azote inerte, jusqu'à un volume de 100 µL.

3.1.4 Fractionnement des extraits organiques par chromatographie liquide haute performance

Le protocole utilisé est adapté de celui proposé par Ferreira *et al.* (1999) et modifié par Pineau *et al.* (2009). Un volume de 250 µL d'extrait organique préparé à partir de 750 mL de vin est injecté sur un système analytique DIONEX Ultimate 3000 équipé d'un dégazeur, d'une pompe tertiaire (Ultimate 3000), d'un passeur automatique (Ultimate 3000), et d'un collecteur automatique de fractions (Ultimate 3000) piloté par le logiciel d'acquisition « Chromeleon ».

L'injection de 250 µL est effectuée en mode automatique. La colonne utilisée est en phase inverse du type C18 (Novapak® HR, Waters, 7,8×300 mm ; 6 µm (diamètre intérieur). Les solvants sont l'eau ultra pure (MilliQ, Millipore) (solvant A) et l'éthanol distillé (solvant B). Le gradient d'éluion est le suivant : eau MilliQ (solvant A) pendant les deux premières minutes puis ajout progressif d'éthanol (solvant B) (par un gradient linéaire) jusqu'à atteindre 100% d'éthanol au bout de 50 minutes. Le débit est de 1 mL/min. Nous obtenions au final 50 fractions de 1 mL, présentant chacune des nuances aromatiques différentes. Notons que la colonne après chaque usage était rincée par de l'eau et de l'acétonitrile, selon la programmation suivante ; le rinçage débute par 80% d'eau et 20% d'acétonitrile pour 20min, puis par 60% d'eau et 40% d'acétonitrile aussi pour 20min et ainsi de suite pour atteindre les

100% d'acétonitrile, et au final on revient à 100% d'eau pour 25 min. Ces opérations ont été effectuées dans le but d'éviter le colmatage et le dysfonctionnement des colonnes.

3.1.4.1 Extraction des fractions

Les fractions obtenues sont diluées dans de l'eau ultra pure (MilliQ, Millipore) afin d'obtenir un titre alcoométrique volumique de 12% v/v. Puis les fractions sont extraites à trois reprises par le dichlorométhane (1 mL à chaque fois). Enfin les trois extraits seront récupérés, assemblés, séchés sur Na₂SO₄ anhydre et puis concentrés sous flux d'azote inerte jusqu'à 250 µL.

3.1.5 Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG-O)

Un chromatographe Hewlett-Packard HP-5890 a été utilisé pour mettre en évidence des zones odorantes. Le chromatographe est équipé d'un détecteur « sniffing » (ODO-1 - SGE-Ringwood, Australie) ainsi que d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) ou d'un détecteur à photométrie de flamme (FPD).

Un volume de 2 µL d'extrait organique est injecté en mode splitless (température d'injecteur : 230°C, temps de purge : 60s, débit de purge 50 mL/min). Deux colonnes capillaires sont utilisées pour réaliser des analyses : BP20 [SGE, 50m-0,25mm d.i-0,22µm épaisseur de film], et DB1 [Agilent, 30m- 0,25 d.i-0,25 µm épaisseur de film]. La température initiale du four est de 45°C pendant une minute pour la BP20 et 10 minutes pour la DB1. Par la suite, le four suit la programmation de température à raison d'une augmentation de 3°C par minute jusqu'à une isotherme finale de 230°C. L'isotherme finale est maintenue pendant 20 minutes. Le gaz vecteur est l'hydrogène (Linde, France), avec une pression en tête de colonne de 119 kPa pour la BP20 et 82 kPa pour la DB1 et un débit de 1 mL/min.

3.1.6 Chromatographie en phase gazeuse préparative couplée à l'olfactométrie (pCPG-O)

Le système se compose d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard (HP) 5890 Series II (Agilent Technologies, Palo Alto, États-Unis), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), un détecteur à photométrie de flamme (FPD), un détecteur "sniffing" (ODO-1 du SGE, Ringbow, Australie), et un dispositif Gerstel de piégeage des effluents (Préparative Fraction Collector, Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Allemagne) relié par une ligne de transfert maintenue à 230°C.

Le dispositif de piégeage est constitué de sept pièges en verre (1 µL en forme U, Gerstel) qui peuvent être refroidis avec un dispositif de refroidissement (N₂ liquide) (**Figure 6**). Le dispositif de piégeage est également relié à un dispositif de commande Gerstel 505 (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Allemagne), afin d'établir les zones et durées de piégeage.



Figure 6 : Le dispositif de piégeage cryogénique

La colonne capillaire utilisée est une colonne de type HP-5 « mégabore » [Agilent 30m-0,53mm d.i-1,5µm épaisseur de film]. La température initiale du four est de 45°C pendant une minute. Le volume d'injection est de 10 µL par injection. Le débit de purge est ajusté à 50 mL/min. Les échantillons sont injectés en mode splitless (température d'injecteur : 230°C, temps de purge: 60 sec, débit de purge: 50 mL/min). Par la suite, le four suit la programmation en température de 3°C par minute jusqu'à isotherme final de 230°C. L'isotherme finale est maintenue pendant 20 minutes. Le gaz vecteur est l'hydrogène (Linde, France), avec une pression en tête de colonne de 22 kPa. Les composés volatils sont collectés en sortie de la colonne dans une piège cryogénique dont la température est maintenue à -40°C par de l'azote liquide. Une fois déconnectés du collecteur des fractions, les tubes en U sont rincés par du dichlorométhane et concentrés sous flux d'azote. Lors des expériences de collecte et d'optimisation de la température de piégeage, les tubes en U contenant les

composés piégés volatils ont été rincés quatre fois avec 250 μ L de dichlorométhane et puis concentrés à nouveau sous flux d'azote puis conservés dans des « vials » à -20°C en vue d'analyse. Les échantillons ont été ensuite comparés, par des aires de pics chromatographiques, avec des solutions standard en CPG-SM.

3.1.7 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

Un volume de 2 μ L d'extrait organique est injecté en mode splitless (température d'injecteur : 230°C, temps de purge : 60s, débit de purge 50mL/min) dans un chromatographe Agilent 6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (MSD 5975i Agilent Technologies, Palo Alto, USA) fonctionnant en ionisation électronique (énergie d'ionisation : 70 eV, température de la source à 230°C et température du quadripôle à 150°C).

Les ions détectés sont compris dans une gamme m/z allant de 40 à 300. L'acquisition des résultats est effectuée en utilisant le logiciel MSD Chemstation associé à la bibliothèque de spectre de masse NIST 2008 (US National Institute of Standards and Technology-NIST, Gaithersburg, MD, USA). Les composés ont ensuite été caractérisés par la comparaison de leurs spectres de masse et leurs ILR (Indice Linéaire de Rétention) avec ceux de composés de références analysés dans les mêmes conditions.

3.1.8 Indices linaires de rétention

Les indices linaires de rétention, appelés aussi indices de Kovats, sont déterminés à partir du temps de rétention d'alcane linaires (Kovats, 1958). Ils sont obtenus en injectant une solution des alcanes normaux dans les mêmes conditions que l'extrait à analyser. A partir du temps de rétention de chaque composé, nous déterminons son indice linaire de rétention en appliquant la formule ci-dessous :

$$\text{Indice de Rétention} = (100 \times C_n) + 100 \times \frac{R_t(\text{composé}) - R_t(\text{alc.préc})}{R_t(\text{alc.suiv}) - R_t(\text{alc.préc})}$$

où C_n représente le nombre d'atomes de carbone de l'alcane précédent et R_t le temps de rétention chromatographique.

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

Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide d'un système chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle constitué par deux chromatographes indépendants connectés au moyen d'une ligne de transfert thermo régulée gardée à 230°C (West 4400, West Instruments, USA).

Chromatographe 1 (CPG-1): Le chromatographe utilisé est un Hewlett Packard HP-6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA), équipé d'un système d'olfactométrie ODO I (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Allemagne) et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Le système est équipé d'une pièce en croix (« Cross piece ») à la fin de la première colonne, de façon à permettre le transfert des composés élués de la première colonne, alternativement vers la deuxième colonne ou vers l'extérieur (détection FID, olfactométrique). Ainsi, au cours de l'analyse, la détection FID ou olfactométrique peut être réalisée afin de définir le temps de rétention auquel les composés d'intérêt sont transférés depuis la première colonne vers la deuxième. Plus précisément, le GC1 est équipé avec un piège cryogénique à N_2 liquide à la fin de la colonne ainsi qu'avec un système Gerstel MCS 2 (MultiColumn Switching system) (Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Allemagne), qui permet de transférer sélectivement les « coupes » ou « heart-cuts », correspondants à une portion d'éluat, de la première colonne directement dans la deuxième colonne placée dans le deuxième chromatographe (GC-2). Le gaz vecteur (He, Linde, France) est réglé à un débit constant de 1 mL/min, débutant à un niveau de pression en tête de colonne de 224 kPa, pendant une minute, suivi d'une augmentation de 1,4 kPa/min jusqu'à la pression finale de 310 kPa, maintenue pendant 42 minutes. Un volume de 5 μ L d'extrait organique, est injecté dans une colonne capillaire HP5 (Agilent, 30m-0,32mm d.i- 0,5 μ m d'épaisseur de film). Par ailleurs, deux tubes en silice fondue (40 cm- 0,05 mm d.i.) fournis par Supelco (Bellefonte, PA, USA) ont été utilisés pour relier la pièce en croix (« Cross piece ») et les détecteurs ODO-1 et FID. La température du four est située à 45°C pendant une minute en début d'analyse chromatographique suivie d'une

programmation de 5°C/min jusqu'à l'isotherme finale de 230°C, maintenue pendant 42 minutes (durée totale du programme = 83,67 minutes)

Chromatographe 2 (CPG-2): Le chromatographe utilisé est un Hewlett Packard HP-6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, United States) équipé d'un système de détection olfactométrique ODO II (Gerstel) et couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (MSD 5975i Agilent Technologies, Palo Alto, USA) fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV, température de la source à 230°C et température du quadripole à 150°C) avec une détection en mode SCAN (courant ionique total). Le système est équipé d'une pièce en croix (« Cross Piece ») de telle façon que l'analyse CPG-olfactométrique et la détection en mode SCAN étaient simultanément possible (division 1:1). Deux tubes en silice fondue (40 cm-0,05 mm d.i.) de Supelco (Bellefonte, PA, USA) ont été utilisés pour relier la pièce en croix et les détecteurs ODO et SM. Deux minutes après avoir réalisé le « heart-cut », la température du programme du deuxième four a été augmenté (3°C/min jusqu'à 230°C). Les analyses étaient réalisées soit sur une colonne capillaire BP20 (SGE, 60m- 0,25 mm d.i-0,22 µm d'épaisseur de film) soit une colonne capillaire BP1 (SGE, 60m-0,25mm d.i-0,25 µm d'épaisseur de film) avec une température du four de 45°C pendant 27 minutes suivie d'une programmation de 3°C/min jusqu'à l'isotherme finale de 230°C, maintenue pendant 20 minutes (durée totale du programme = 83,67 minutes). Le gaz vecteur (He, Linde, France) a été remis à une pression de 224 kPa au niveau de pièce en croix pendant les premières 25 minutes, suivi d'une programmation de 1,4 kPa/min jusqu'à la pression finale de 327 kPa, maintenue pendant 27 min.

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 équipé de la bibliothèque NIST 2008 (US National Institute of Standards and Technology - NIST, Gaithersburg, MD, USA).

3.1.10 La quantification des composés volatils par CPG-SM (méthode des ajouts dosés)

La quantification des composés odorants est effectuée par CPG-SM dans le mode SIM (Selected Ion Monitoring) en sélectionnant des ions spécifiques de chaque molécule. Le dosage des composés volatils d'intérêt est réalisé en mesurant l'abondance des ions caractéristiques pour une molécule rapportée à celle des ions caractéristiques de l'étalon

interne. Les ions utilisés pour la détection et la quantification des différentes molécules sont spécifiés dans le **Tableau 3**.

Les thiols volatils sont dosés à partir des extraits sélectifs du vin. Le 1-methoxy-3-méthyl-3-butanethiol est utilisé comme étalon interne et détecté avec les ions m/z 134 et 100 et dosé avec l'ion m/z 134. Le méthional et le phénylacétaldéhyde sont quantifiés à partir d'extraits non sélectifs de vin. Le 3-octanol est utilisée comme étalon interne. Il est détecté avec les ions m/z 83 et 59 et quantifié avec l'ion m/z 59. Le furanéol®, homofuranéol et norfuranéol sont également dosés à partir d'extraits non sélectifs de vin. L'éthylmaltol est utilisé comme étalon interne. Il est détecté avec les ions m/z 140 et 139 et quantifié avec l'ion m/z 140. Les lactones aliphatiques sont quantifiées à partir d'extraits sélectifs des lactones. Le 2-octanol est utilisée comme étalon interne ou externe. Il est détecté avec les ions m/z 45 et 84 et quantifié avec l'ion m/z 45.

Pour chaque composé, une courbe d'étalonnage est réalisée en supplémentant un vin avec huit concentrations croissantes du composé à doser. Ces échantillons sont ensuite extraits et analysés par CPG-SM avec le mode SIM. Les rapports entre les aires des pics des ions majoritaires du composé à doser et celles de l'étalon sont calculés pour les différentes concentrations. Les équations de la droite de régression linéaire ainsi que le coefficient de détermination sont calculés. La concentration du composé dans un échantillon donné est calculée grâce à l'équation de la droite de régression linéaire.

Tableau 3 : Ions utilisés pour la détection et la quantification, de différents composés dosés

Composés	Ions utilisés pour la détection (m/z)	Ions utilisés pour la quantification (m/z)
3-sulfanylhexan-1-ol	134, 116, 100	134
Méthional	104, 76, 61	104
Phénylacétaldéhyde	120, 91, 65	120
Furanéol®	128, 85, 57	128
Homofuranéol	142, 127, 99	142
Norfuranéol	114, 55	114
cis-3-méthyl-4-octanolide	99	99
trans-3-méthyl-4-octanolide	99	99
2-nonen-4-olide	125, 84	84
γ-octalactone	85	85
γ-nonalactone	85	85
γ-décalactone	85	85
δ-décalactone	99	99
Massoia-lactone	97	97
Eugénol	164	164

3.1.11 Dosage du 2-nonen-4-olide dans les moûts et les vins

Après avoir préparé un extrait selon le protocole décrit pour le dosage des lactones, un volume de 1 μ L d'extrait organique est injecté en mode splitless (température d'injecteur : 230°C, temps de fermeture : 60s, débit de purge 50 mL/min) dans un chromatographe Agilent 6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (MSD 5975i Agilent Technologies, Palo Alto, USA) fonctionnant en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV, température de la source à 230°C et température du quadripôle à 150°C). La colonne capillaire utilisée pour réaliser les analyses est du type DB1 [Agilent, 30m-0,25 d.i-0,25 μ m épaisseur de film]. La température initiale de la CPG est de 45°C pendant une minute et par la suite un gradient de 3°C par minute jusqu'à 130°C et puis un gradient de 40°C par minute jusqu'à 280°C avec une isotherme de 10 minutes. Le gaz vecteur est l'hélium (Linde, France), avec une pression en tête de colonne de 85 kPa avec un débit de 1,5 mL/min. Le 2-nonen-4-olide a été détecté en mode SIM en sélectionnant les m/z

84, 125 ions et a été quantifiée en utilisant m/z 84. L'étalon interne, le 2-octanol, a été détecté avec les ions 84 et 97 m/z. Dans une gamme de concentrations de 0,5 à 20 µg / L, les mesures étaient linéaires [2-nonèn-4-olide, µg/ L] = 3,5906x-0,0325 (x = rapport entre l'aire de pic de 2-nonèn-4-olide sur l'aire de pic de l'étalon); $R^2 = 0,9975$). La répétabilité (1,4%) du système a été évaluée sur une série de huit injections. La limite de quantification (0,5µg/L) du composé correspond à la concentration minimale générant un signal dix fois supérieur au bruit de fond.

3.1.12 Synthèse du 2-nonèn-4-olide (réalisée par le groupe du Dr Fabrice Robvieux, Firmenich, Genève, Suisse)

La lactone a été préparée par réaction d'un réactif Grignard vinylique stabilisé (Sapountzis *et al.*, 2001) sur l'hexanal comme décrit par Rainka *et al.* (2005). Un flacon de 500mL préalablement séché à la flamme et équipé d'un barreau aimanté recouvert de téflon a été chargé avec de l'ester éthylique de l'acide 3-iodo-buten-2-oïque (Ma *et al.*, 1990) (6,9 g, 32,7 mmol) sous atmosphère d'argon. Le tétrahydrofurane (THF) (130 mL) a été ensuite ajouté et le mélange a été refroidi à -78°C. Une solution de chlorure de magnésium isopropylique (iPrMgCl) (16,4 mL, 2M dans Et₂O) a été ensuite ajoutée goutte à goutte. La solution a été agitée pendant 2 heures supplémentaires à -78°C. Cette solution a ensuite été ajoutée à travers une double aiguille à une solution sous agitation de n-Hexanal (1 équiv.) fraîchement distillé dans le THF (130 mL) et ceci sous atmosphère d'Argon à -78°C. La réaction a été laissée se réchauffer lentement à 0°C, puis a été désactivée avec du chlorure d'ammonium aqueux saturé puis on a laissé se réchauffer le mélange jusqu'à température ambiante. Le mélange réactionnel a ensuite été extrait trois fois avec de l'éther di-éthylique (Et₂O). Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées avec de l'eau puis séchées sur du sulfate de sodium (Na₂SO₄) puis filtrées et concentrées. Après purification par chromatographie sur gel de silice, 2,6 g (23%) de 2-nonèn-4-olide ont été obtenus (pureté > 99% déterminée par chromatographie en phase gazeuse avec détection à ionisation de flamme FID). Ce produit a eu le même spectre de masse que celui décrit par Dai *et al.* (2012).

3.2 ANALYSE SENSORIELLE

De nombreuses séances d'analyse sensorielle ont été organisées. Elles ont toutes exclusivement concerné la perception orthonasale.

3.2.1 Conditions et paramètres généraux

3.2.1.1 Panel

- Le panel 1, constitué de 3 spécialistes des arômes des vins, 1 femme et 2 hommes dont la moyenne d'âge était de $38,6 \pm 9,8$ (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 15 personnes, 9 femmes et 6 hommes, âgés de $30,7 \pm 5,1$ (moyenne \pm écart type).

Tous les panélistes, membres de l'Unité de Recherche Œnologie, ISVV, ont été choisis pour leur expérience dans l'évaluation des arômes fruités. 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.

3.2.1.2 Environnement

Les séances d'analyse sensorielle ont été effectuées dans la salle de dégustation de l'Unité de recherche Œnologie, 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, garantissent une dégustation isolée et indépendante, sans concertation. Ils ne disposent d'aucun matériel d'assistance informatique, seules des fiches de dégustations ont été systématiquement fournies.

3.2.1.3 Verres

Toutes les dégustations ont été faites dans des verres opaques (noirs), correspondants à la norme ISO 3591 : 1977 (AFNOR 2007).

3.2.2 Réalisation des reconstitutions aromatiques

3.2.2.1 Fractions obtenues par CLHP

3.2.2.1.1 Préparation des fractions

Pour la récupération des fractions CLHP, le protocole déjà présenté (paragraphe **3.1.4**) a été suivi.

3.2.2.1.2 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 les perceptions olfactives en utilisant un vocabulaire libre.

3.2.2.2 Mise en œuvre des reconstitutions aromatiques dans différents 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 trois vins : un vin typique parmi les vins de pourriture noble de la région bordelaise (1) (millésime 2006), un vin non typique parmi les vins de pourriture noble de la région bordelaise (2) (millésime 2010) et un vin blanc sec non boisé de la région bordelaise (3) (millésime 2008).

Les reconstitutions aromatiques élaborées à partir des fractions obtenues par CLHP ont été préparées en rassemblant 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, deux matrices ont été utilisées, permettant de réaliser, de manière quantitative, les reconstitutions aromatiques : une solution hydroalcoolique et un vin « désaromatisé ».

La matrice hydroalcoolique était constituée d'éthanol absolu bi-distillé et de l'eau distillée de façon à atteindre un TAV de 12% vol. Le pH final a été mesuré à 3,9.

La méthode de désaromatisation utilisée reprend celle décrites par Pineau *et al.* (2009) et Campo *et al.* (2005). Le vin désaromatisé a été préparé à partir de vin liquoreux (1). Dans un premier temps, le vin a été évaporé au tiers par évaporation sous vide. Puis 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, le vin a été filtré. Le vin désaromatisé même si était totalement exempt des composés volatils, il présentait un fond des notes séchées qui rappellent le « pain de mie »

3.2.3 Epreuves d'analyse sensorielle et interprétation statistique des résultats

3.2.3.1 Epreuves discriminatives

3.2.3.1.1 Tests triangulaires à partir de reconstitutions aromatiques

Pour chaque test triangulaire, trois échantillons de 50 mL ont été présentés de manière codée aux sujets (NF EN ISO 4120 : 2007) (AFNOR 2007). Deux échantillons sont identiques et le troisième différent, le sujet doit repérer l'échantillon différent. Chaque juge doit cocher, pour chaque test, l'échantillon qu'il perçoit comme différent et donne une réponse même s'il n'en est pas certain. La composition et l'ordre de présentation des échantillons de chaque triade sont équilibrés sur le jury. Six présentations sont 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 & de Revel, 1999). Des tests triangulaires ont été réalisés pour diverses reconstitutions aromatiques à partir des fractions obtenues par CLHP (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Tests triangulaires effectués en utilisant diverses reconstitutions aromatiques (RA)

Matrice	Echantillons comparés		Vin	Panel
Solution Hydroalcoolique	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	1	2
Vin désaromatisé	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	1	2
Solution Hydroalcoolique	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	3	2

RA : reconstitutions aromatiques

3.2.3.1.2 Tests triangulaires à partir de fractions collectées par pCPG-O

Au cours de ces travaux des tests triangulaires particuliers ont été mis en place. Il s'agit de la comparaison de différentes fractions collectées par l'appareil de CPG préparative. Les fractions sont collectées en lien avec leur temps de rétention. Le principe de test triangulaire reste toujours le même sauf que la présentation des échantillons se fait sur des mouillettes à cellulose par le dépôt de 2 μ L d'échantillon. Ensuite les sujets peuvent sentir la mouillette après l'évaporation du solvant. Les conditions de la salle de dégustation restent toujours les mêmes. Ainsi, différents tests triangulaires ont été constitués (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Tests triangulaires effectués en utilisant diverses fractions obtenues par CPG préparative

Echantillons comparés		Vin	Panel
pGCf (0-82,66)	Extrait brut	1	2
pGCf (0-82,66)	pGCf (0-36+40-82,66)	1	2
pGCf (0-36+40-82,66)	pGCf (36-40)	1	2
pGCf (0-36)	pGCf (40-82,66)	1	2
pGCf (36-40)vt	pGCf (36-40)vnt	1+2	2

pGCf : fraction de la CPG préparative ; les chiffres correspondent à la zone du chromatogramme (en minutes);
vt : vin typé ; vnt : vin non typé

3.2.3.1.3 Traitement statistique des différents tests triangulaires

Le test triangulaire est l'épreuve discriminative la plus utilisée. Elle consiste à présenter 3 échantillons codés au sujet, qui doit alors repérer l'échantillon différent. Pour un nombre de réponses total et un risque donnés, le nombre de réponses justes nécessaires pour conclure à une différence significative entre les produits testés est évalué par le biais de leur conformité à une loi Binomiale.

Le traitement est fondé sur l'utilisation de la loi binomiale (probabilité 1/3, test unilatéral) mais afin de faciliter l'analyse des réponses, une table de signification est disponible. Cette table nous permet de trouver pour le nombre de réponses total, à un risque donné, le nombre de réponses justes nécessaires pour conclure à une différence significative entre les produits présentés (Martin & de Revel, 1999). 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 %.

3.2.3.1.4 Détermination de seuil de perception

Les seuils de perceptions 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 (**Tableau 6**). 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. Deux séries de 3-AFC ont été réalisées par séance.

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

Composé	Concentrations (µg/L)	Matrice	Panel
2-nonen-4-olide	0.5 / 1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128 / 256	SH / Vin	3

SH : Solution hydroalcoolique modèle (12% EtOH, 5gr/L acide tartrique ; pH : 3,5)

Pour le calcul des seuils de perception, 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 & Abraham, 2008).

Une courbe sigmoïde de la forme $y = 1 / (1 + e^{-\lambda x})$ 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 $P_{max} = 1$, $x_0 = \text{constante}$. Quand $P = 0,5$ (50% de réponses correctes), alors $x = x_0$, x_0 correspondant au seuil de perception.

3.2.4 Epreuves descriptives

3.2.4.1 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 du 2-nonen-4-olide ont été effectuées par le panel 3 en solution hydroalcoolique en utilisant les concentrations suivantes : 8µg/L et 100µg/L Les participants ont été invités à décrire l'odeur perçue à partir d'un vocabulaire libre.

Des analyses descriptives des fractions obtenues par CPG préparative ont été effectuées en utilisant différentes fractions. Le vocabulaire pour la description des arômes reste toujours libre. Le **Tableau 7** montre les différentes fractions évaluées.

Tableau 7 : Différents fractions présentées lors des analyses descriptives

Echantillons							Vin	Panel
pGCf	pGCf	pGCf	pGCf	pGCf	pGCf	pGCf	1+2	2
(0-82,66)	(0-36+40-82,66)	(36-40)	(0-36)	(40-82,66)	(36-40)vt	(36-40)vnt		

pGCf : fraction de la CPG préparative ; les chiffres correspondent à la zone du chromatogramme (en minutes);
vt : vin typé ; vnt : vin non typé

3.2.4.2 Etablissement de profils sensoriels

Des profils sensoriels ont été établis pour diverses reconstitutions aromatiques soit à partir des fractions obtenues par CLHP (expérimentation 1 et 2) soit à partir des fractions obtenues

par CLHP mélangées éventuellement avec des composés de référence (expérimentations 3 et 4) soit même à partir des seuls composés de référence (expérimentations 5, 6, 7, 8 et 9).

Concernant les expérimentations 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 6 (où 0 indique qu'aucune odeur n'est perçue et 6 indique que l'intensité est très élevée) (Martin & de Revel, 1999). Les trois descripteurs sélectionnés étaient « agrumes-orangé », « floral » et « sucre cuit-miel ».

Les reconstitutions aromatiques préparées à partir des différentes fractions, obtenues par CLHP de l'extrait organique sont présentées dans le **Tableau 8** (expérimentations 1 et 2). Un exemple de la fiche de dégustation présentée aux sujets est fourni en annexe.

Tableau 8 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA)

Expérimentation	Matrice	Echantillons			Vin	Panel
1	Solution Hydroalcoolique	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (37+38)	Vin 1	2
2	Vin désaromatisé	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (37+38)	Vin 1	2

RA : reconstitutions aromatiques

Concernant les expérimentations 3, 4 et 5 des profils sensoriels ont été réalisés grâce au panel 3 lors de dix huit séances (chacune ayant lieu à des jours différents, avec de répétitions). Deux matrices (reconstitutions aromatiques à partir de fractions 1 à 50 ; vins utilisés 1+2) ont été utilisées pour le test. Elles ont été supplémentées en 3-méthyl-4-octanolide (« whisky lactone »), eugénol, 2-nonen-4-olide, et γ -nonalactone (seuls ou en mélange ou avec l'omission de chacun) à des concentrations retrouvées dans les fractions 37 à 38, du vin (1) ou du vin (2) (**Tableau 9**). Pour des tests particuliers, on a utilisé une matrice de vin non typé [reconstitution aromatique de vin (2)] mais avec les concentrations des composés de référence mesurées dans l'extrait de vin typé (1). Dans un premier temps, l'intensité du descripteur « arôme global » est évaluée. Puis, le panel est amené à décrire les descripteurs d'« orange

confite » et « typicité ». Un niveau de typicité élevé correspond dans la reconnaissance de notes caractéristiques des vins de pourriture noble de la région bordelaise. Ces intensités sont évaluées sur une échelle non structurée de 0 à 10 cm, portant la mention « Peu intense » sur la gauche et « Très intense » sur la droite. Pour la notation de la « typicité » la mention « mauvais exemple » sur la gauche et « bon exemple » sur la droite. Un exemple de la fiche de dégustation présentée aux sujets est fournie en annexe. Enfin, sur l'expérimentation suivante (4), le même principe d'analyses sensorielles a été appliquée mais avec l'omission des différents composés de référence (**Tableau 9**).

Pour les expérimentations (5), (6), (7), (8) et (9), des profils sensoriels sur des matrices simples ont été réalisés. La matrice utilisée est une solution hydroalcoolique modèle (5gr/L acide tartrique ; pH : 3,5) ajustée à 12% d'éthanol. Pour ces tests sensoriels, des mélanges à partir des composés de références sont présentés. Les ajouts des composés de référence correspondent, soit à des concentrations retrouvées dans un vin typé (vin 1), soit à des concentrations d'un vin non typé (vin 2). Dans un premier temps, l'intensité du descripteur « arôme global » est évaluée. Puis, celle des descripteurs d'« orange confite » et de « typicité ». La fiche de dégustation présentée aux sujets est identique de celle présentée lors des expérimentations (3) et (4).

D'abord une séance sensorielle avec les composés seuls a été présentée. Puis cinq séances, avec répétition à chaque fois du même protocole expérimental, ont été réalisées pour ces conditions. Dans les cas des expérimentations (5) et (6), deux échantillons sont identiques. Pour les expérimentations suivantes, différents mélanges de composés ont été présentés (**Tableau 10**) en analysant en particulier l'effet d'un composé sur la qualification sensorielle du mélange. Ainsi, le 3-sulfanylhexanol (3SH), le nonanal ou la massoia lactone ont été choisis pour étudier leur impact dans le mélange (**Tableaux 11, 12 & 13**).

Enfin, des analyses sensorielles ont été effectuées sur des vins. Chaque échantillon de 50 mL a été présenté. Pour l'établissement de profils sensoriels, chaque descripteur a été évalué et positionné en fonction de son intensité mesurée en utilisant une échelle de notation comprenant une échelle non structurée de 0 à 10 cm, portant la mention « Peu intense » sur la gauche et « Très intense » sur la droite. Les six descripteurs sélectionnés étaient « fruits frais », « fruits confits », « boisé », « épice », « caramel », « miel » et en plus la notation de la typicité a été demandée.

Afin d'évaluer statistiquement les modifications sensorielles en mélange, des analyses de la variance à un facteur sur les données centrées-réduites ont été réalisées pour chaque descripteur. Les conditions d'application de l'ANOVA ont été vérifiées sous le logiciel R : homogénéité des variances (test de Levene) et normalité de résidus (test de Shapiro-Wilk). En alternative, 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 α est fixé dans les analyses à 5%. Ensuite les Analyses en Composantes Principales et des tableaux de corrélations de Spearman ont été élaborés à partir du logiciel R.

Tableau 9 : Profils sensoriels établis à partir de reconstitutions aromatiques (RA) dans deux matrices différentes

Matrice		Echantillons							Vin	Panel
Expérimentation 3	VT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) +WL	RA (1-36+39-50) +E	RA (1-36+39-50) +N	RA (1-36+39-50) + γ N	1	3
	VNT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) +WL	RA (1-36+39-50) +E	RA (1-36+39-50) +N	RA (1-36+39-50) + γ N	2	3
	VNT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) +WL	RA (1-36+39-50) +E	RA (1-36+39-50) +N	RA (1-36+39-50) + γ N	2	3
Expérimentation 4	VT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) + WL+E+N+ γ N				1	3
	VNT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) + WL+E+N+ γ N				2	3
	VNT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) + (WL+E+N+ γ N)*				2	3
Expérimentation 5	VT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) + (E+N+ γ N)	RA (1-36+39-50) + (WL+N+ γ N)	RA (1-36+39-50) + (WL+E+ γ N)	RA (1-36+39-50) + (WL+E+N)	1	3
	VNT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) + (E+N+ γ N)	RA (1-36+39-50) + (WL+N+ γ N)	RA (1-36+39-50) + (WL+E+ γ N)	RA (1-36+39-50) + (WL+E+N)	2	3
	VNT	RA (37+38)	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	RA (1-36+39-50) + (E+N+ γ N)*	RA (1-36+39-50) + (WL+N+ γ N)*	RA (1-36+39-50) + (WL+E+ γ N)*	RA (1-36+39-50) + (WL+E+N)*	2	3

VT : vin typé ; VNT : vin non typé ; RA : reconstitutions aromatiques à partir des fractions CLHP, WL : whisky lactone ; E : eugénol ; N : 2-nonen-4-olide ; γ -N : γ -nonalactone supplémentés aux concentrations trouvées dans les fractions 37 à 38 du vin (1) ou (2). *concentrations des composés sur des fractions 37 à 38 du vin typé.

Tableau 10 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omission réalisés

	Echantillons	Composés			
		Whisky Lactone	Eugénol	2-nonen-4-olide	γ -nonalactone
Expérimentation 5	1-VT	X	X	X	X
	2-VNT	X*	X*	X*	X*
	3-VT-WL	-	X	X	X
	4-VT-E	X	-	X	X
	5-VT-N	X	X	-	X
	6-VT- γ N	X	X	X	-
Expérimentation 6	1-VT	X	X	X	X
	2-VNT	X*	X*	X*	X*
	3-VT-WLNT	X*	X	X	X
	4-VT-ENT	X	X*	X	X
	5-VT-NNT	X	X	X*	X
	6-VT- γ NNT	X	X	X	X*

X : concentrations retrouvées dans le vin typé (Vin 1) ; X* : concentrations retrouvées dans le vin non typé (Vin 2)

Tableau 11 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omissions réalisés (effet du 3SH)

	Echantillons	Composés				
		Whisky Lactone	Eugénol	2-nonen-4-olide	γ -nonalactone	3-sulfanylhexan-1-ol
Expérimentation 7	1-VT	X	X	X	X	
	2-VNT	X*	X*	X*	X*	
	3-VT-WL	-	X	X	X	
	4-VT-E	X	-	X	X	
	5-VT-N	X	X	-	X	
	6-VT- γ N	X	X	X	-	
	7-VT+3SH	X	X	X	X	X
	8-VNT+3SH	X*	X*	X*	X*	X
	9-VT-WL+3SH	-	X	X	X	X
	10-VT-E+3SH	X	-	X	X	X
	11-VT-N+3SH	X	X	-	X	X
	12-VT- γ N+3SH	X	X	X	-	X

X : concentrations retrouvées dans le vin typé (Vin 1) ; X* : concentrations retrouvées dans le vin non typé (Vin 2)

Tableau 12 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omission réalisés (effet du Nonanal)

	Echantillons	Composés				
		Whisky Lactone	Eugénol	2-nonen-4-olide	γ -nonalactone	Nonanal
Expérimentation 8	1-VT	X	X	X	X	
	2-VNT	X*	X*	X*	X*	
	3-VT-WL	-	X	X	X	
	4-VT-E	X	-	X	X	
	5-VT-N	X	X	-	X	
	6-VT- γ N	X	X	X	-	
	7-VT+Non	X	X	X	X	X
	8-VNT+Non	X*	X*	X*	X*	X
	9-VT-WL+ Non	-	X	X	X	X
	10-VT-E+ Non	X	-	X	X	X
	11-VT-N+ Non	X	X	-	X	X
	12-VT- γ N+ Non	X	X	X	-	X

X : concentrations retrouvées dans le vin typé (Vin 1) ; X* : concentrations retrouvées dans le vin non typé (Vin 2)

Tableau 13 : Composition des échantillons présentés lors des différents tests de reconstitution et d'omission réalisés (effet de la Massoia Lactone)

	Echantillons	Composés				
		Whisky Lactone	Eugénol	2-nonen-4-olide	γ -nonalactone	Massoia Lactone
Expérimentation 9	1-VT	X	X	X	X	
	2-VNT	X*	X*	X*	X*	
	3-VT-WL	-	X	X	X	
	4-VT-E	X	-	X	X	
	5-VT-N	X	X	-	X	
	6-VT- γ N	X	X	X	-	
	7-VT+Mas	X	X	X	X	X
	8-VNT+Mas	X*	X*	X*	X*	X
	9-VT-WL+ Mas	-	X	X	X	X
	10-VT-E+ Mas	X	-	X	X	X
	11-VT-N+ Mas	X	X	-	X	X
	12-VT- γ N+ Mas	X	X	X	-	X

X : concentrations retrouvées dans le vin typé (Vin 1) ; X* : concentrations retrouvées dans le vin non typé (Vin 2)

3.3 EXPÉRIMENTATIONS ŒNOLOGIQUES

Les prélèvements concernant les 2 parcelles de Sémillon sont effectués à différents stades du développement de *Botrytis cinerea* (*stade raisins sains, pourri plein, pourri rôti, pourri vieux*). Les prélèvements se font sur un volume suffisant de vendange pour obtenir au moins 3 litres de jus de raisin après pressurage. Une fois récoltés, les raisins sont directement pressés, sans éraflage, avec un presseur pneumatique de laboratoire (Bellot, Gradignan, France), pouvant aller jusqu'à 4 bars de pression. Un seul rebêchage est effectué pour extraire les jus les plus sucrés.

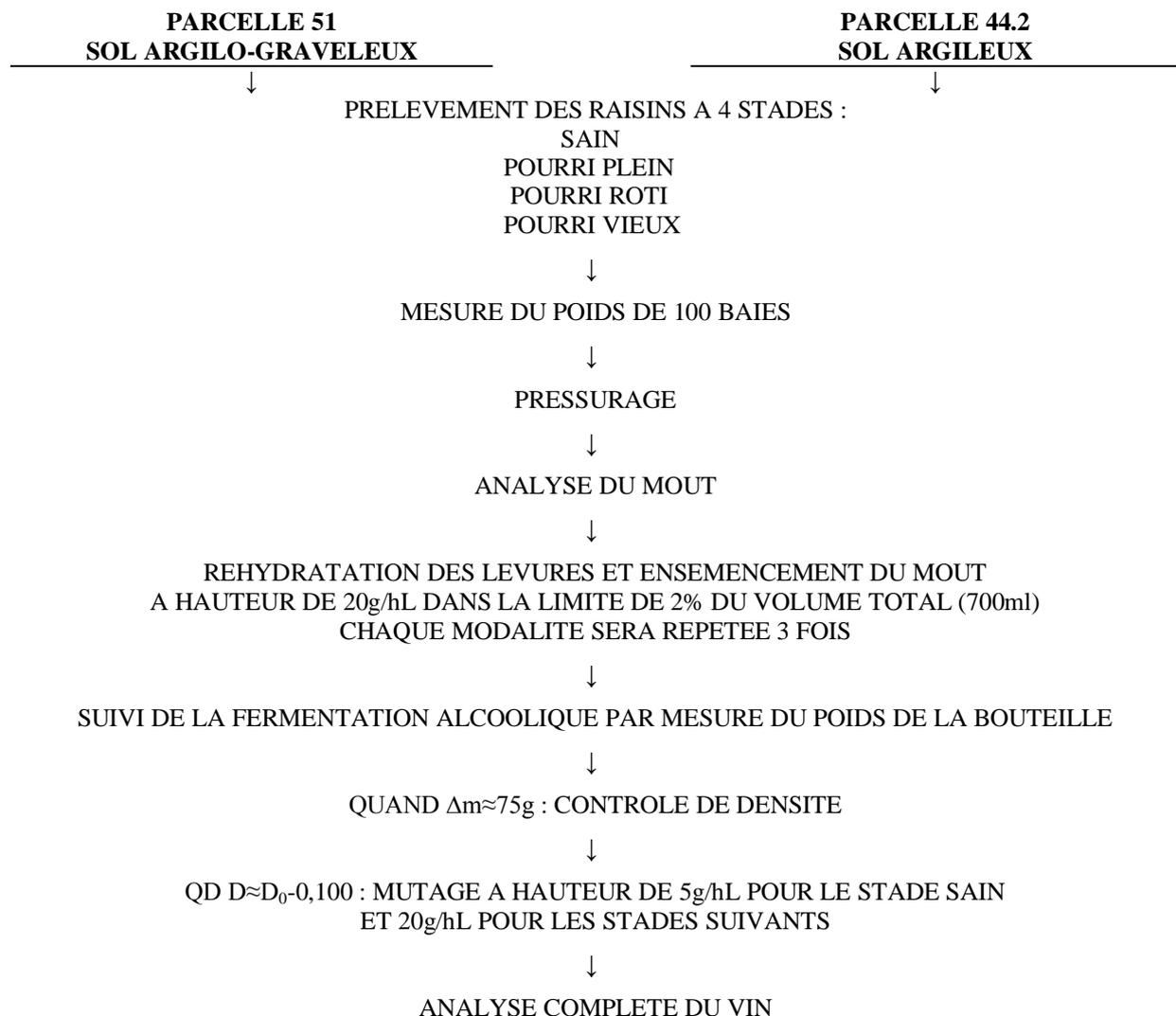


Figure 7 : Opérations de suivi de vinification expérimentale

Une analyse complète du moût est effectuée dans le laboratoire du Château : densité, taux d'alcool potentiel (TAVP) et concentration en sucre (par lecture sur les tables de correspondance selon la densité obtenue), acidité volatile (après distillation au Chenard, titration à la soude 0,1N puis rectification de l'acidité apportée par l'anhydride sulfureux), sucres (par la méthode de Fehling), acidité totale (par titration à la soude 0,1N de 5ml de moût), pH (au pHmètre). A chaque fois, au moins 200 mL de moût sont conservés dans un flacon au congélateur.

A chaque stade et pour chaque parcelle, la microvinification est réalisée en triplicata dans des bouteilles en verre de 750 mL, soit au total 24 échantillons. Chaque bouteille est complétée par 700mL de moût. Les moûts sontensemencés par *Saccharomyces cerevisiae* souche Zymaflore ST (Biolaffort, Bordeaux, France). Les levures sèches actives sont préalablement réhydratées dans le moût à un niveau de 200mg/L pendant 30 minutes avant ensemencement. Le volume d'ensemencement est limité à 2% du volume total souhaité soit 14 mL par bouteille. La thiamine (Biolaffort, Bordeaux, France) et le sulfate d'ammonium (Biolaffort, Bordeaux) sont aussi rajoutés à chaque échantillon. La fermentation alcoolique est suivie en mesurant le poids de la 1^{ère} bouteille de chaque modalité.

Lorsque la perte de poids de la bouteille Δm atteint environ 75g, la densité est mesurée avec un densimètre. Si $d=d_0-0,100$, la fermentation alcoolique est stoppée par ajout d'une solution d'anhydride sulfureux à 10% (w/v) (Biolaffort, Bordeaux), à un niveau de concentration final de 50 mg/L (0,4 mL par bouteille) pour les moûts élaborés avec des raisins prélevés au stade sain et 200 mg/L (1,4mL) pour les stades suivants. Lorsque la fermentation alcoolique est terminée et le vin muté, une analyse complète est effectuée (**Figure 7**).

4 FRACTIONNEMENT D'EXTRAITS DE VINS LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE DE LA REGION BORDELAISE

4.1 MISE EN EVIDENCE DE FRACTIONS EVOQUANT DES NUANCES AROMATIQUES DE « FRUITS CONFITS » PAR CLHP SEMI PREPARATIVE

4.1.1 Introduction

Les travaux de Sarrazin (2007), Sarrazin *et al.* (2007a) concernant l'analyse d'extraits aromatiques de vins liquoreux de pourriture noble par chromatographie en phase gazeuse couplée à un mode de détection olfactométrique ont conduit à la mise en évidence de plus de 70 zones odorantes. Ces zones odorantes évoquaient de nombreuses notes aromatiques rappelant des nuances caractéristiques de vins liquoreux de pourriture noble comme les agrumes, le miel et le caramel... Pour la très grande majorité d'entre elles, les mêmes zones odorantes ont été aussi détectées dans les extraits de vins blancs secs des mêmes cépages. Cependant, en utilisant un mode de hiérarchisation des zones odorantes par AEDA (i.e. mode d'estimation du niveau d'importance d'une zone odorante proportionnellement à l'importance de dilution de l'extrait de vin), Sarrazin *et al.* (2007a) ont montré que beaucoup de zones odorantes dans les aromagrammes des vins liquoreux de pourriture noble étaient plus intenses que dans les vins blancs secs. Aussi, l'analyse par couplage de CPG-Olfactométrie ne permettait pas de souligner la présence des zones odorantes évoquant les nuances spécifiques des fruits confits et plus particulièrement d'orange confite. L'interprétation de ces nuances aromatiques, bien identifiées dans certains vins de pourriture noble, peuvent donc reposer sur des phénomènes d'interactions perceptives impliquant des composés présentant des odeurs différentes de celles perçues en mélange.

C'est pourquoi une autre approche a été utilisée pour progresser dans la caractérisation des composés associés aux notes typiques de « fruits confits » dans les vins liquoreux de pourriture noble en utilisant un mode de fractionnement des extraits par CLHP, avant leur soumission à analyse sensorielle. L'avantage de ce mode de fractionnement du vin est aussi de disposer d'une matrice moins complexe et plus facile à analyser. Dans notre démarche, la méthode développée par Pineau *et al.* (2009) (CLHP semi préparative) a été utilisée, elle permet de percevoir les nuances odorantes d'un extrait de vin après fractionnement.

4.1.2 Description olfactive des vins et des fractions associées obtenues par CLHP d'extraits bruts

Les profils sensoriels de vins commerciaux, préalablement sélectionnés par le panel n°1 pour leur caractère aromatique, ont été établis. Ils se composent, d'une part, d'un vin de pourriture noble de la région bordelaise, choisi pour son caractère typique avec des notes de fruits confits et plus particulièrement des notes d'orange confite et d'autre part d'un vin blanc sec non boisé. Le vin (1) est un vin liquoreux de Bordeaux, AOC Sauternes, issu d'un assemblage de 90% de Sémillon et 10% de Sauvignon blanc du millésime 2006. Il présente un nez expressif et fin, où se mêlent aux nuances d'orange confite des notes d'épices et de caramel. Le vin (3) est un vin blanc sec, non boisé, de la région bordelaise, issu d'un assemblage de 90% de Sauvignon blanc et 10% de Sémillon du millésime 2008. Le vin présente des notes aromatiques typiques du cépage (fruits exotiques, agrumes) associées à des notes de fleurs blanches.

L'application de la CLHP semi préparative, sur colonne de silice greffée C18, pour les extraits organiques de ces vins, préparés avec le dichlorométhane, donne lieu à 50 fractions en phase aqueuse ou hydroalcoolique. La CLHP semi préparative a aussi été effectuée sur des extraits obtenus par distillation sous vide. Les résultats de l'olfaction des différents vins et des fractions obtenues sont présentés dans le **Tableau 14**. Les analyses effectuées par le panel n°1 ont confirmé que les caractéristiques olfactives des vins sont conservées lors du fractionnement (**Tableau 14**). 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.

Après olfaction directe des fractions, nous nous sommes focalisés sur les fractions 37 et 38 présentant les odeurs fruitées caractéristiques de fruits confits. Dans ces fractions, le caractère « fruits confits » est net et intense pour le vin liquoreux, alors qu'il n'est pas présent dans les fractions du vin blanc sec. De plus, il est intéressant de noter que pour les extraits issus de la distillation sous vide, ces mêmes fractions présentent toujours les notes de fruits confits. Dans les vins liquoreux, certaines fractions (24-25-26-28-29) présentent des notes de sucre cuit (bonbon) ainsi que des notes de biscuit. Entre les différents vins, certaines fractions sont similaires, comme celles présentant des notes fruitées, florales, lactées et épicées (20-21-

22-27-40-41). Ces dernières ne semblent donc pas être spécifiques du type de vin étudié. Cependant, les différences entre les fractions des différents vins se situent principalement au niveau de l'intensité de la note perçue. Les fractions 1 à 10 sont non odorantes pour le vin liquoreux, tandis que pour le vin blanc sec, elles présentent des notes d'alcools supérieurs. Les fractions 48 à 50 restent non odorantes quel que soit le vin.

Tableau 14: Description des fractions obtenues par CLHP des deux vins correspondants. Exemple numéro 1

Fraction	Castelnau de Suduiraut 2006	Castelnau de Suduiraut 2006 (DSV)	Château Thieuley 2008 (vin blanc sec)
14	poivron vert	-	bonbon
15	légèrement acétique	biscuit	bonbon fraise
16	-	-	bonbon
17	poire	acide gras	-
18	solvant	-	acétate d'éthyle
19	solvant	épicé	acétate d'éthyle
20	ester	fruité	banane pomme
21	lait pourri	acide gras	banane
22	lait pourri	lacté	lait pourri
23	lait frais	acide gras	poivron vert
24	sucré caramel	caramel	fraicheur
25	sucré bonbon	-	fraicheur
26	sucré	-	mentholée
27	vanille	biscuit	alcool isoamylique
28	alcool isoamylique	biscuit	pharmaceutique
29	pharmaceutique plastique	pharmaceutique	pharmaceutique
30	-	-	pharmaceutique plus faible
31	légèrement rose	rose	floral
32	clou de girofle	épicé	agrumes
33	menthe	-	agrumes
34	fleur d'oranger	solvant	menthe plastique
35	pharmaceutique	fruité orange	citronné
36	solvant	-	noisette
37	fruits confits, orange	orange confite net	agrumes
38	fruits confits	fruits confit	herbacé
39	agrumes et boisé	abricot	herbacé et agrumes
40	muscaté bois	-	muscaté
41	fleur fraicheur	-	fleur, ester
42	fleur citronnée	citron	solvant lourd
43	mandarine	-	plastique lourd
44	bonbon sucré, herbacé	-	bonbon sucré, herbacé fort
45	bonbon sucré herbacé	-	bonbon sucré, herbacé

DSV : Distillation sous vide

Les analyses sensorielles par le panel n°1 ont été poursuivies sur d'autres vins afin de confirmer la différence entre les descripteurs olfactifs des fractions 37 et 38 de vins liquoreux et vin sec. Ainsi sur les **Tableaux 15 & 16** présentent les résultats obtenus.

Tableau 15 : Description des fractions obtenues par CLHP des deux vins correspondants.
Exemple numéro 2

Fraction	Château Dauphiné Rondillon 2003	Château Moutin 2008 (vin blanc sec)
8	floral	sulfure
9	café	coton mouillé
10	acide acétique	pas d'odeur
11	pas d'odeur	pas d'odeur
12	huile d'olive	hydrocarbure
13	beurre	solvant
14	pas d'odeur	pas d'odeur
15	biscuit	pas d'odeur
16	pas d'odeur	pas d'odeur
17	acide gras	fruité
18	pas d'odeur	zeste d'agrumes
19	épicé	fruité
20	épicé	rose
21	acides gras	rose
22	lacté	épicé
23	acides gras	acides gras
24	végétal / esters	pas d'odeur
25	pas d'odeur	pas d'odeur
26	pas d'odeur	pas d'odeur
27	floral très léger	floral, rose fraiche
28	biscuit	fumé
29	biscuit	biscuit
30	pas d'odeur	rose
31	alcool isoamylique	rose
32	alcool isoamylique	buis
33	pas d'odeur	buis
34	solvant	pas d'odeur
35	fruité	pas d'odeur
36	pas d'odeur	fruits frais
37	orange confite / agrumes	fruité
38	fruit confits	pas d'odeur
39	abricot	abricot

Dans le **Tableau 15**, la différence pour les fractions 37 et 38 est aussi notée. Dans le cas de vin liquoreux (Château Dauphiné Rondillon 2003), les descripteurs d'arômes d'orange confite sont toujours perçus dans les fractions 37 et 38 ce qui n'est pas le cas dans le vin blanc sec.

Tableau 16 : Description des fractions obtenues par CLHP des deux vins correspondants. Exemple numéro 3

Fraction	Château Suduiraut 2005	Château Bonnet 2007 (vin blanc sec)
8	lacté, beurré	lacté, beurré
9	lacté, beurré	lacté, beurré
10	lacté, beurré	lacté, beurré
11	pas d'odeur	pas d'odeur
12	pas d'odeur	pas d'odeur
13	caramel brulé	pas d'odeur
14	noix, curry	noix, curry
15	pomme de terre	pomme de terre
16	pomme de terre + butyrique	pomme de terre
17	miel, solvant	bouillon, pomme de terre
18	caramel	bouillon, pomme de terre
19	caramel, sucre cuit, biscuit	pas d'odeur
20	biscuit, sucre cuit, caramel	caramel + solvant léger
21	biscuit, caramel, sucre cuit	sucre cuit, caramel
22	peu odorant	sucre cuit léger
23	rose fanée, floral, pot pourri	pas d'odeur
24	rose fraîche	floral, rose
25	rose fraîche	floral, pot pourri, anisé
26	floral, très frais, fruit rouge	pas d'odeur
27	floral très léger	floral, rose fraîche
28	fruité très léger	pas d'odeur
29	fruit blanc + amande	banane chimique
30	fruit blanc, lourd, fruit confit	agrumes, buis
31	fruité, léger	pas d'odeur
32	fruité+ solvant, léger	pas d'odeur
33	fruité	pas d'odeur
34	solvant	fruité orangé
35	citron	orangé léger
36	noisette	pas d'odeur
37	fruit très mûr, orangé	pas d'odeur
38	fruits confits	bonbon cerise chimique
39	champignon	bonbon cerise chimique
40	bonbon cerise chimique, banane	pas d'odeur
41	bonbon cerise chimique, banane	solvant + banane
42	odeur très légère	odeur solvant prédomine

Les résultats montrent et valident les descripteurs olfactifs de fruits confits-orange confite dans les fractions 37 et 38 (**Tableau 16**). Ainsi, la différence de notes aromatiques entre fractions d'extraits de vins liquoreux et de vins blancs secs est validée une troisième fois.

4.1.3 Analyses sensorielles préliminaires

4.1.3.1 Modalités expérimentales

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

En premier lieu, les fractions présentant des notes « fruits confits » (37 et 38) ont été naturellement sélectionnées. La reconstitution aromatique (rassemblement de l'ensemble des fractions 1-50) présente des notes de fruits confits pour les vins liquoreux de pourriture noble. Elle semble même assez proche de l'arôme du vin et en particulier des notes d'orange confite.

A partir de ce mélange, servant de base de travail, divers tests visant à ajouter ou supprimer certaines fractions ont été effectués et ont eu pour but:

- ✓ De valider avec un panel plus large (panel n°2) la contribution des fractions 37 et 38 aux notes de fruits et plus particulièrement des notes d'orange.
- ✓ D'étudier l'impact sensoriel des fractions 37 et 38 sur la perception des vins liquoreux de pourriture noble et de valider que la suppression des fractions 37 et 38 conduisait à une modification de l'arôme global.
- ✓ D'étudier l'impact sensoriel des fractions 37 et 38 sur l'arôme du vin blanc sec.

4.1.3.2 Validation sensorielle de la contribution de certaines fractions de CLHP à des nuances typiques de l'arôme des vins liquoreux

4.1.3.2.1 Tests triangulaires

Après fractionnement par CLHP d'extraits bruts du vins blanc liquoreux (1), des reconstitutions aromatiques ont été réalisées dans une solution hydroalcoolique à 12% vol et dans un vin liquoreux « désaromatisé ». Celles-ci ont été conduites avec toutes les fractions (RA 1-50), ou avec les fractions 1-36, et 39-50 (RA 1-36 et 39-50) en omettant les fractions 37 et 38. Les mêmes reconstitutions ont été effectuées avec un vin blanc sec (2) mais uniquement en solution hydroalcoolique. Ces reconstitutions ont été soumises à des tests triangulaires pour étudier l'impact des fractions 37-38 dans l'arôme global (**Tableau 17**).

Tableau 17 : Résultats des tests triangulaires à partir des reconstitutions aromatiques

Matrice	Echantillons comparés		Différence	Vin	Panel
Solution Hydroalcoolique	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	**	1	2
Vin désaromatisé	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	*	1	2
Solution Hydroalcoolique	RA (1-50)	RA (1-36+39-50)	-	3	2

** , significative au seuil de 0.1% ; * , significatif au seuil de 1% ; - , aucune différence significative.

Les résultats d'expériences de reconstitution partielle ou totale obtenus dans le cadre de tests triangulaires à partir de fractions de vins liquoreux de pourriture noble montrent l'incidence nette liée à l'omission des fractions 37 et 38 sur l'arôme global du vin. En solution hydroalcoolique, le panel distingue clairement une différence entre les échantillons avec un seuil de confiance de 0,1%. Sur vin « désaromatisé », une différence entre les échantillons est aussi observée avec un seuil de confiance de 1%. En ce qui concerne la reconstitution en solution hydroalcoolique pour le vin blanc sec, nos résultats montrent que l'omission des fractions 37 et 38 n'a pas d'impact mesurable. Aucune différence significative entre les échantillons n'est notée.

4.1.3.2.2 Tests descriptifs

Les expériences suivantes concernent l'établissement de profils sensoriels ainsi que l'analyse de leur représentativité par des tests statistiques. Les tests ont été réalisés dans deux matrices différentes (solution hydroalcoolique et vin « désaromatisé ») avec le deuxième panel.

Tableau 18 : Reconstitutions aromatiques en solution hydro alcoolique. Mesure du niveau d'intensité moyenne (moyenne \pm écart type ; note/6) des descripteurs considérés

Descripteur	Echantillons			
	RA (1-36+39-50)	RA (1-50)	RA (37+38)	Vin
Orange/Agrumes	2,26 \pm 0,78a	2,47 \pm 0,69 a	4,63 \pm 0,88 b	2,63 \pm 1,07 a
Floral	2,36 \pm 0,71 a	2,47 \pm 0,68 a	3,10 \pm 0,75 a	2,36 \pm 0,90 a
Sucre cuit/Miel	5,05 \pm 0,57 c	3,73 \pm 0,54 b	1,87 \pm 0,82 a	4,42 \pm 0,94 bc

En solution hydroalcoolique, nous notons une différence significative à propos du descripteur « orange-agrumes » pour lequel le mélange des fractions 37 et 38 présente une intensité nettement plus importante par rapport aux autres échantillons. Concernant le descripteur « floral », il n'y a pas de différence significative entre les échantillons. Par ailleurs, une différence significative est établie pour le descripteur « sucre cuit-miel » entre l'échantillon de reconstitution totale avec omission des fractions 37-38 et l'échantillon de reconstitution totale, ainsi qu'avec l'échantillon réunissant les fractions 37 et 38. Ainsi, les fractions 37 et 38 ressortent très significativement comme ne présentant pas de descripteur sucre cuit/miel. Dans le mélange des fractions 37-38, ce descripteur est plus faible que dans le vin, de même que pour l'ensemble des fractions reconstituées (**Tableau 18**).

Tableau 19 : Reconstitution aromatique en vin « désaromatisé ». Mesure d'intensité moyenne (moyenne \pm écart type ; note /6) des descripteurs considérés

Descripteur	Echantillons			
	RA (1-36+39-50)	RA (1-50)	RA (37+38)	Vin
Orange/Agrumes	2,21 \pm 0,65 a	2,57 \pm 0,83 ab	3,10 \pm 0,92 b	3,47 \pm 0,81 b
Floral	1,63 \pm 0,64 a	2,05 \pm 0,88 ab	2,10 \pm 0,70 b	2,52 \pm 0,87 b
Sucre cuit/Miel	3,57 \pm 0,92 a	3,94 \pm 0,59 a	4,36 \pm 0,94 a	4,52 \pm 1,09 a

En ce qui concerne les tests descriptifs sur vin « désaromatisé » (**Tableau 19**), des différences significatives sont notées entre le vin seul ou supplémenté avec les fractions 37 et 38 et la reconstitution avec les fractions 1-36 et 39-50 pour le descripteur « agrumes-orange » (significativité à 0,5%). Cependant, seulement une tendance est notée dans le niveau de significativité pour ce descripteur entre la modalité de vin liquoreux « désaromatisé » et supplémenté par les fractions 1-50 par rapport à la modalité excluant les fractions 37 et 38 (modalité RA 1-36+39-50). Concernant le descripteur « floral », les mêmes observations sont faites. Cependant, pour le descripteur « sucre cuit-miel », à la différence de la reconstitution en solution hydroalcoolique, aucune différence significative n'est observée.

4.2 RECHERCHE DE ZONES ODORANTES PAR CPG-O ASSOCIEES AUX NUANCES « D'ORANGE CONFITE » DANS DES EXTRAITS DE VIN LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE

4.2.1 Analyse d'extraits de vins liquoreux correspondant aux fractions 37 et 38

La mise en évidence de tonalités aromatiques aussi caractéristiques dans les fractions 37 et 38 nous a conduit, à rechercher par une approche traditionnelle (CPG-Olfactométrie) la présence de zones odorantes représentatives de composés volatils potentiellement associés à

ces arômes. Ainsi, les extraits des fractions 37 et 38 ont été analysés à la fois sur une colonne polaire (BP20) et sur colonne apolaire (HP5). La compilation des aromagrammes obtenus par 3 personnes entraînées n'a conduit à la mise en évidence d'aucune zone odorante rappelant ces nuances sur colonne polaire de type BP20. Cependant, les aromagrammes obtenus sur colonne HP5 (**Tableau 20**) montrent l'existence de plusieurs zones odorantes. Parmi les zones odorantes identifiées, une zone odorante persistante (ILR 1414-1443), rappelant l'orange confite a été mise en évidence. Dans les mêmes conditions d'analyse, pour un extrait des fractions de vin blanc sec, aucune zone odorante avec des notes d'orange confite n'a été observée. Ainsi, l'analyse par CPG-O a montré que les zones odorantes de l'arôme d'orange confite sont spécifiques aux vins liquoreux de pourriture noble.

Tableau 20 : Zones odorantes détectées par CPG-O dans des extraits organiques de la fraction 37 et 38 de vin liquoreux (colonne HP5)

Fraction 37			Fraction 38		
I.L.R	T.R	Descripteurs*	I.L.R	T.R	Descripteurs*
944	15,2	agrumes	1093	22,8	végétal
997	17,8	cire	1113	23,8	herbacé
1075	21,9	végétal	1115	23,9	beurre
1097	23,0	feu	1134	24,8	rose
1122	24,2	sucre cuit	1155	25,8	pamplemousse
1135	24,8	rose	1210	28,4	bonbon
1143	25,2	végétal	1302	32,7	floral
1159	26,0	pamplemousse	1364	35,5	boisé
1184	27,2	bois	1369	35,7	fruité
1205	28,2	plastique	1382	36,3	boisé
1274	31,4	floral	1417	37,8	épicée
1347	34,7	floral (intense)	1443	38,9	fruits confits
1360	35,3	vanille	1490	40,9	fruité
1380	35,8	noix de coco	1702	49,2	beurré
1414-1443	38,3-38,9	orange confite			
1502	41,4	fruité			
1691	48,8	pain d'épices			
1852	54,5	sucre cuit			
1870	55,1	boisé			

I.L.R. : Indice linéaire de rétention ; T.R : Temps de rétention ; * : Synthèse des descripteurs olfactifs notés par les 3 opérateurs

4.2.2 Analyse d'extraits bruts de vins liquoreux

Les analyses par CPG-O des fractions 37 et 38 ont montré l'existence d'une zone odorante qui rappelle l'orange confite qui se situe entre les ILR 1414 et 1443. Ainsi, la vérification de la zone odorante dans des extraits bruts des vins liquoreux a été effectuée. Dans les mêmes conditions chromatographiques (utilisation de la colonne apolaire HP5) une zone odorante persistante d' « orange confite » est mise en évidence (**Tableau 21**).

Tableau 21 : Zones odorantes détectées par CPG-O dans un extrait organique de vin liquoreux sur colonne HP5

I.L.R	T.R	Descripteurs
916	13,8	pomme de terre
923	14,2	caramel
928	14,4	fromage
959	15,9	buis
986	17,3	beurrée
995	17,7	miel
999	17,9	fruité
1007	18,3	ananas
1019	19,0	sucre cuit
1023	19,2	levures
1038	19,9	fruité
1070	21,6	fleur
1077	22,0	sucre cuit
1128	24,5	vanille
1141	25,1	miel/noix
1166	26,3	sucre cuit
1176	26,8	champignon
1345	34,6	beurrée
1380	35,8	noix de coco
1394-1434	36,8-38,5	fruits confits-orange confite
1471	40,1	barbe à papa
1478	40,4	fruité
1500	41,3	barbe à papa
1546	43,2	abricot
1555	43,5	fruit cuit
1578	44,4	viandé
1655	47,4	noix de coco

I.L.R. : Indice linéaire de rétention ; T.R : Temps de rétention

4.3 DISCUSSION-CONCLUSION

L'application de la CLHP semi-préparative sur les extraits de vin a permis d'obtenir cinquante fractions odorantes solubilisées dans un mélange eau/éthanol. Il est ainsi possible de décrire leurs caractéristiques aromatiques par olfaction directe, sans la présence de solvant toxique ou malodorant. Concrètement, la confrontation directe des fractions 37 et 38 entre le vin « typé » de pourriture noble et le vin blanc sec montre des différences remarquables. Les fractions issues du vin de pourriture noble évoquent très clairement des arômes de fruits confits et plus particulièrement d'orange confite, composants aromatiques très importants des vins liquoreux de pourriture noble. A l'inverse, ces descripteurs ne sont pas retrouvés lors du fractionnement des vins blancs secs. Ainsi, une analyse sensorielle par omission des fractions 37 et 38 dans le mélange rassemblant des fractions (1-50) permet d'évaluer l'impact des fractions spécifiques dans la perception des nuances typiques de l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble. L'importance des fractions 37 et 38 dans la reconnaissance par les dégustateurs de tonalités aromatiques typiques de vins liquoreux a ainsi été mise en évidence dans l'arôme global des vins liquoreux. Ces mêmes fractions ont un rôle mineur dans les vins blancs secs. Par la suite, les tests descriptifs ont permis de confirmer la contribution de ces mêmes fractions (37 et 38) aux nuances orangées et miellées des vins blancs liquoreux de pourriture noble. Les résultats sont très significatifs en solution hydroalcoolique, moins significatifs dans la matrice de vin « désaromatisé ».

L'intérêt du fractionnement d'extraits de vins en utilisant comme solvants l'eau et l'éthanol a initialement été décrit par Ferreira *et al.* (1999) puis largement utilisé par Pineau (2007). Il est possible ainsi d'isoler des fractions présentant des nuances associées à la qualité de l'arôme des vins (Pineau *et al.*, 2007 ; Pons *et al.*, 2008 ; Lytra *et al.*, 2012ab ; Schuttler, 2012) ou responsables de déviations (Nikolantonaki & Darriet, 2011) et de progresser dans la qualification olfactive des différences sensorielles entre vins en se focalisant sur des matrices moins complexes, représentées par des fractions d'hydrophobie croissante. Les expériences de reconstitution aromatique constituent des protocoles clés d'appréciation de la pertinence sensorielle des fractions ainsi isolées, avec dans tous les cas des réponses moins significatives en solution de vin « désaromatisé ». En effet, restent toujours présentes des notes de "mie de pain" qui produisent vraisemblablement un effet de masque. Par ailleurs, les composés non-volatils du vin peuvent aussi impacter sur les valeurs de coefficient de partage des composés

volatils (K) engendrant selon la matrice des différences dans la perception aromatique (Dufourc & Bayonove, 1999 ; Rocha *et al.* 2001).

L'étude des fractions 37 et 38 par CPG-O a constitué la première étape de notre travail de caractérisation des composés clés de l'arôme caractéristique de « fruits confits » et plus particulièrement la note d' « orange confite ». Une première identification de zone odorante caractéristique a été faite dans les extraits de la fraction 37 qui sont plus marqués par des notes orangées. Dans l'aromagramme de la fraction 38 une zone odorante de fruits confits a été repérée au même temps de rétention chromatographique. La présence d'une zone odorante évoquant l'odeur de fruits confits et d'orange confite a été également mise en évidence dans les extraits bruts des vins liquoreux. Dans tous les cas la zone d'orange confite n'a été jamais repérée dans les extraits des vins blancs secs. Ces observations constituent une étape préliminaire pour pouvoir identifier les molécules responsables de ces notes caractéristiques des vins liquoreux et d'étudier leur impact sensoriel.

**5 MISE AU POINT D'UNE METHODE DE
FRACTIONNEMENT ET DE RECOMBINAISON DE
L'AROME DU VIN PAR CHROMATOGRAPHIE EN
PHASE GAZEUSE PREPARATIVE (PCPG-O)**

5.1 INTRODUCTION

Le vin est une matrice extrêmement riche en composés volatils. Plus de mille composés ont été identifiés, à des teneurs pouvant aller de quelques centaines de mg/L, à quelques µg/L, voire même ng/L. La plupart des composés volatils du vin sont présents à des teneurs inférieures ou proches de leurs seuils de perception individuels. Compte tenu de possibles phénomènes d'interactions perceptives entre eux, il est très complexe de déterminer leur impact réel sur l'arôme du vin.

La nécessité de développer une méthode pouvant associer des approches à la fois analytiques et sensorielles nous a conduit à la chromatographie en phase gazeuse préparative (pCPG-O). Ce système permet, à partir d'un extrait de vin plus ou moins purifié, de déterminer les caractéristiques sensorielles d'une zone odorante isolée ou, inversement, de déterminer les caractéristiques sensorielles d'un extrait avec soustraction d'une zone odorante considérée dans le cadre de tests d'omission. Concrètement, le principe de ces tests repose le piégeage cryogénique de l'effluent gazeux en sortie de colonne de l'extrait de vin. L'impact lié à la soustraction d'une zone odorante lors de l'analyse chromatographique d'un extrait de vin peut alors être apprécié sensoriellement, comme a été fait par Hasselbath *et al.* (2007) pour l'arôme du café.

Dans ce chapitre sont présentés les résultats de validation d'une méthode de chromatographie en phase gazeuse préparative avant de considérer son application à l'appréciation sensorielle des zones odorantes associées aux notes « clés » de fruits confits, dont la mise en évidence a été décrite dans le chapitre précédent.

5.2 INTERET DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE PREPARATIVE (PCPG-O)

5.2.1 Développement de la méthode

5.2.1.1 Impact de la température de piégeage

Des expérimentations ont été conduites afin de choisir la température idéale pour le piégeage des composés d'intérêt. Ainsi, six températures différentes de piégeage cryogénique ont été appliquées en sortie de colonne capillaire (-10, -20, -30, -40, -50 et -100°C). Pour chaque température, deux composés, le δ -dodécalactone et le phénylacétaldéhyde, ont été testés en injectant 1 μ L d'une solution de ces composés dans le dichlorométhane à 10 mg/L et chaque analyse a été répétée 3 fois. Brièvement, les composés piégés sont collectés en rinçant en fin d'analyse chromatographique les pièges en verre avec 1 mL de dichlorométhane. Puis la solution concentrée à 250 μ L sous flux d'azote et réinjectée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Le rendement est calculé en regard de l'aire de pic chromatographique pour l'échantillon issu d'un piégeage cryogénique par rapport au pic obtenu avec l'analyse de l'échantillon issu d'une supplémentation de composé dans le dichlorométhane avant concentration à 250 μ L (cf matériels et méthodes).

Concernant le δ -dodécalactone, une légère variation dans le taux de piégeage est observée selon la température de piégeage utilisée. Ainsi, un taux de récupération optimum est noté pour les températures de -20 à -50°C. A une température de -100°C, le rendement baisse de manière très significative en dessous de 10% (**Figure 8**).

Plusieurs auteurs (Mandalakis *et al.*, 2003 ; Hasselbarth *et al.*, 2007) ont montré l'intérêt de piéger des composés à très basses températures les composés volatils en sortie de colonne capillaire (-70°C), mais l'utilisation de températures aussi basses que -100°C semble défavorable à la qualité du piégeage de ces deux composés volatils. Ainsi, un taux de récupération situé à 65 ± 15 % a été déterminé pour des températures de piégeages situées entre -10 et -50 °C.

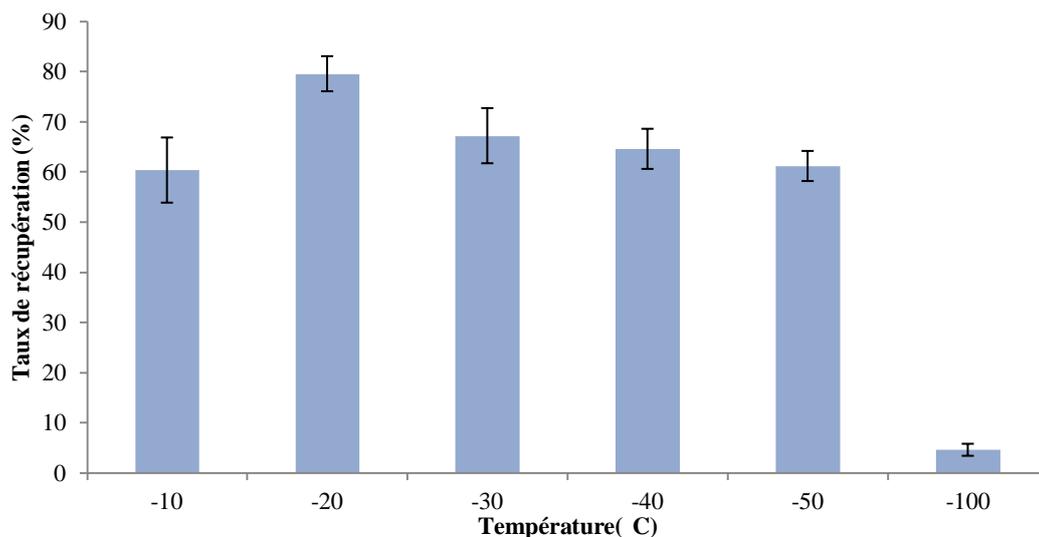


Figure 8 : Taux de récupération de δ -dodécalactone pour différentes températures de piégeage cryogénique en sortie de colonne capillaire

Concernant le phénylacétaldéhyde (**Figure 9**), un taux de récupération élevé a été constaté entre -20 et -40 °C mais à -50°C, le rendement est plus faible.

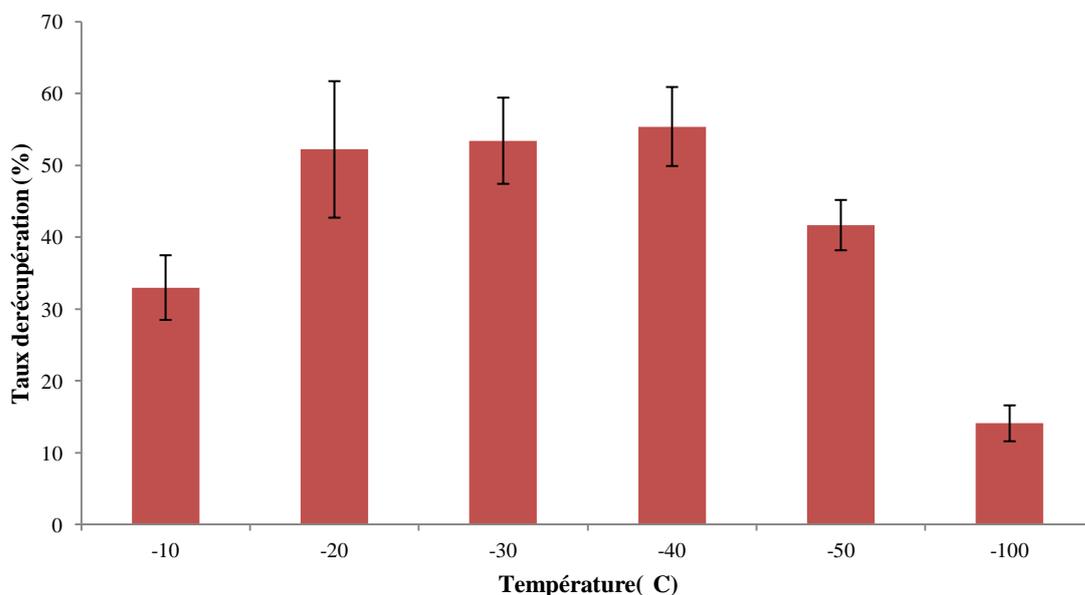


Figure 9 : Taux de récupération du phénylacétaldéhyde pour différentes températures de piégeage cryogénique en sortie de colonne capillaire

En faisant la synthèse des références bibliographiques (Hasselbarth *et al.*, 2007 ; Pons, 2006) et à partir de nos résultats, une température de piégeage de -40°C a été retenue.

5.2.1.2 Incidence du type du composé piégé

Dans le cadre de l'étude par pCPG-O, cinq composés purs ont été utilisés afin de déterminer l'impact du type de composé sur le rendement de piégeage à -40°C. Il s'agit de la δ -dodécalactone, de l'homofuraneol, du phénylacétaldéhyde, du linalol ainsi que du 3-sulfanylhexanol. Ces composés ont été choisis pour leur importance dans l'arôme du vin. La méthodologie est identique à celle utilisée précédemment.

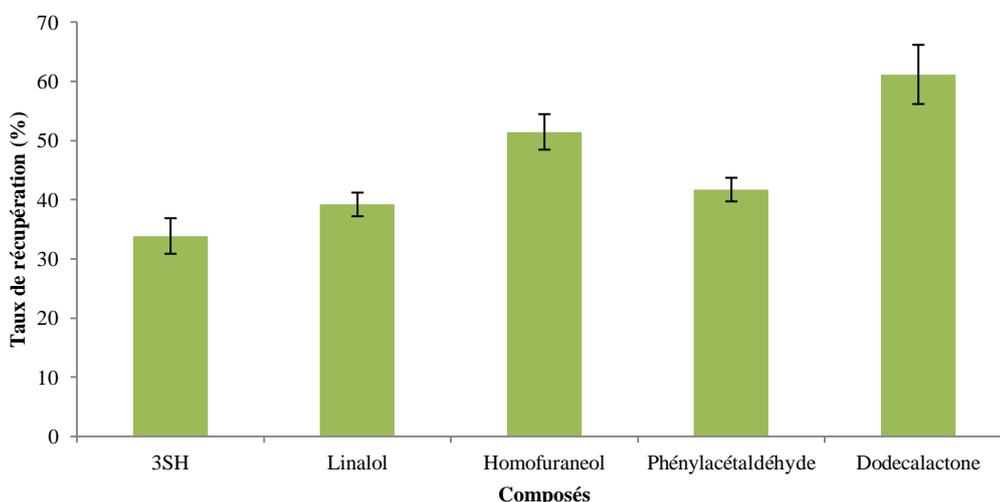


Figure 10 : Taux de récupération pour les différents composés après leur injection en pCPG

Nous avons noté une différence entre les échantillons concernant le taux de récupération des composés volatils (**Figure 10**). Il est clairement apparu que pour des conditions analytiques identiques, le rendement de piégeage de la δ -dodécalactone et de l'homofuraneol est bien supérieur à celui du 3-sulfanylhexanol, du linalol et du phénylacétaldéhyde. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études (Mandalakis & Gustafsson, 2003 ; Ochiai & Sasamoto, 2011) qui montrent une variation du taux de récupération selon la nature du composé. De plus, ces auteurs ont montré que la CPG préparative permettait la purification

des extraits organiques mais en aucun cas ne conduisait à une concentration des extraits. Ainsi, dans les travaux d'Ochiai & Sasamoto. (2011), une augmentation du taux de récupération a été obtenue, mais en injectant le même échantillon à vingt reprises.

5.2.1.3 Analyse de la sélectivité du piégeage d'un composé volatil dans un mélange

De nouvelles expériences ont été conduites pour s'assurer que dans le cas du piégeage d'un composé dans un mélange, il n'y avait pas de pollution du piège par les autres composés. Autrement dit, l'expérience a pour but de confirmer la sélectivité du piégeage. Ainsi, le même mélange des composés contenant : linalol, 3-sulfanylhéxanol, homofuraneol, phénylacétaldéhyde et δ -dodécalactone a été employé. L'échantillon est préparé dans le dichlorométhane, chaque composé étant utilisé à une concentration de 10 mg/L. A partir du mélange, 1 μ l a été injecté par chromatographie en phase gazeuse et deux types d'expériences ont été menés. La première expérience a consisté à piéger tous les composés associés dans le mélange (**Figure 11**).

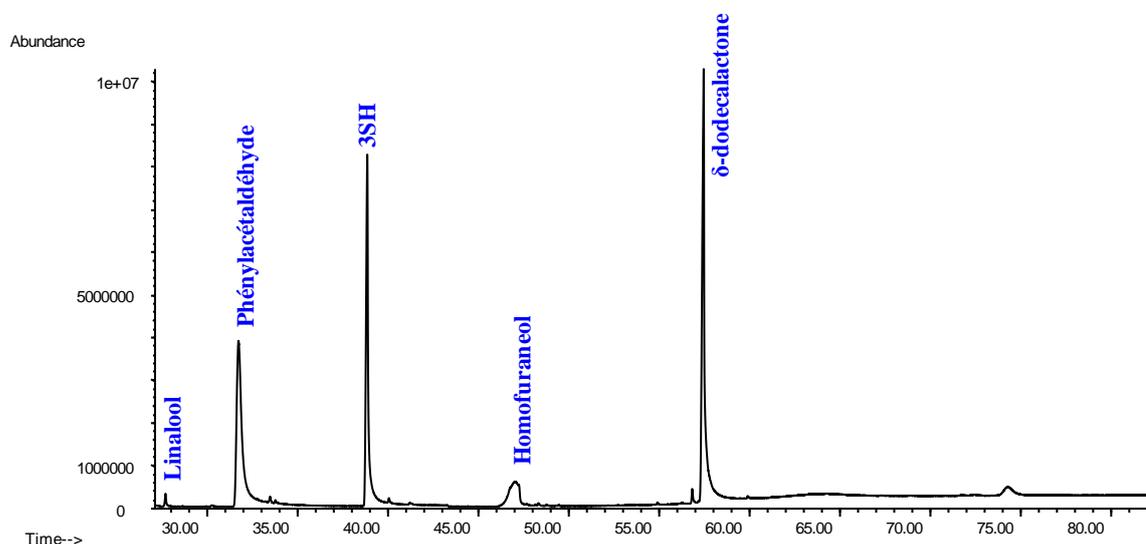


Figure 11 : Chromatogramme par CPG-SM obtenu à partir du piégeage complet des composés en mélange

Pour vérifier l'absence de pollution par un autre volatil, au cours du piégeage d'un seul composé du mélange, l'expérience a consisté à piéger sélectivement le phénylacétaldéhyde

dans le cadre d'une coupe (« cut ») effectuée 3 minutes avant l'élution du composé et 3 minutes après. Le piège a été refroidi à -40°C pendant toute la chromatographie. L'analyse de l'extrait par CPG-SM consécutive au piégeage du phénylacétaldéhyde, selon le protocole décrit préalablement, permet de noter la présence d'un seul pic chromatographique correspondant au phénylacétaldéhyde (**Figure 12**).

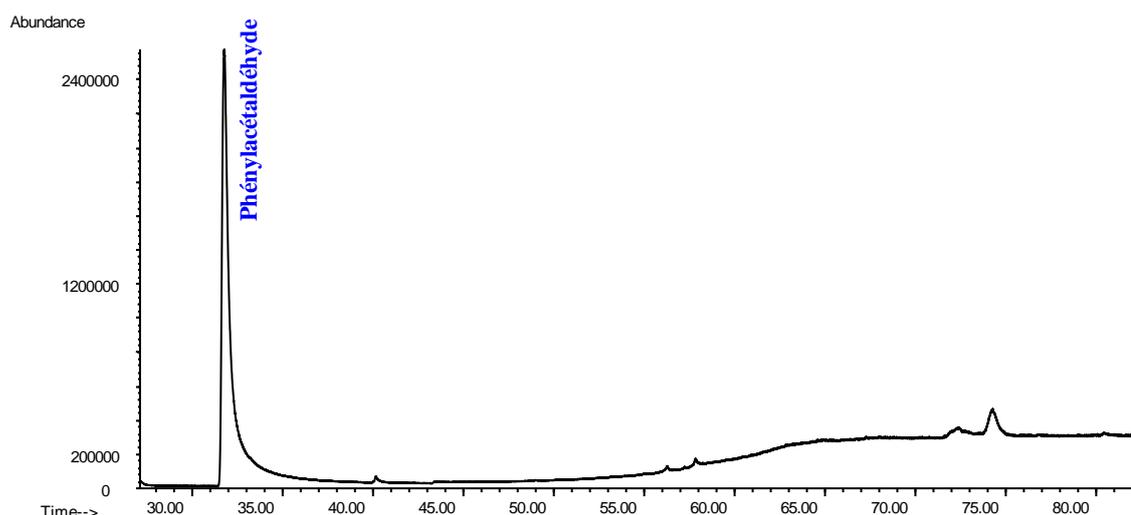


Figure 12 : Chromatogramme obtenu à partir du piégeage du phénylacétaldéhyde

Ainsi, dans un mélange simple de cinq composés, séparés sur une colonne chromatographique, le piégeage d'un seul composé est bien sélectif du composé choisi sans pollution associée au piégeage des autres composés (**Figure 13**). L'analyse chromatographique de ces différentes modalités de piégeage confirme le bon fonctionnement de notre système de piégeage. Dans le cas d'un mélange plus complexe, comme par exemple le vin, la sélectivité du piégeage doit théoriquement pouvoir être garantie. Cependant, pendant une période de temps de quelques minutes, le piégeage pourra inclure non pas un mais plusieurs composés co-élus avec pour conséquence potentielle d'influencer, éventuellement par des phénomènes d'interactions perceptives, les caractéristiques olfactive du piège.

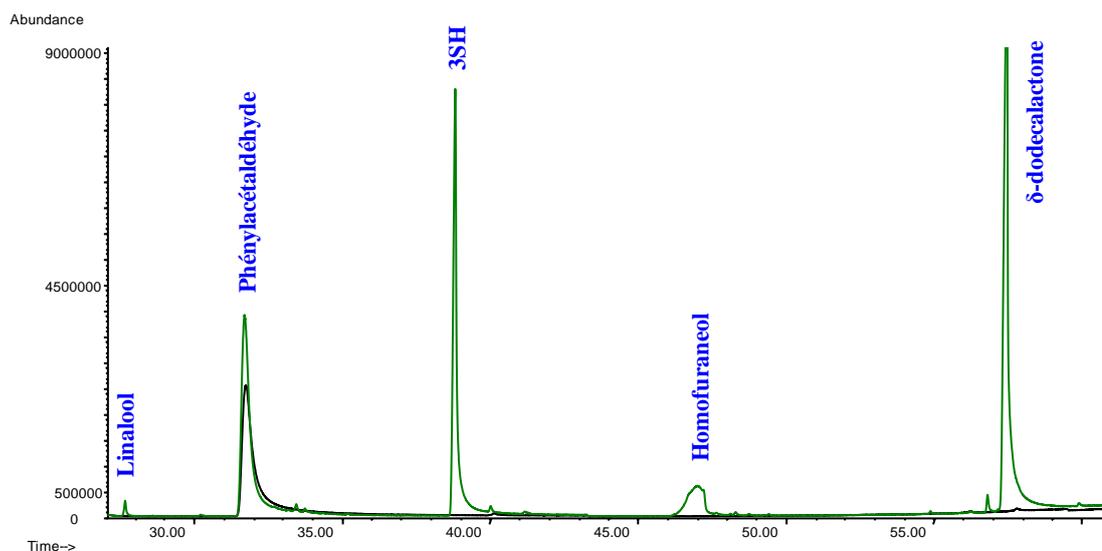


Figure 13 : Focus du chromatogramme obtenu à partir d'un piégeage complet des 5 composés volatils (tracé vert) et du piégeage d'un seul composé (phénylacétaldéhyde, tracé noir)

5.2.2 Application de la méthode de la Chromatographie en phase Gazeuse préparative (pCPG-O) à la mise en évidence d'une fraction odorante rappelant l'orange dans les extraits de vins liquoreux

5.2.2.1 Analyse de la fraction 37 d'un vin liquoreux de pourriture noble obtenue par CLHP semi préparative

Compte tenu de l'intérêt de ces zones odorantes, des tests d'omission et de recombinaison ont été effectués par chromatographie en phase gazeuse préparative. Ces tests visent à analyser l'impact lié soit de la soustraction de la zone odorante d'intérêt sur l'odeur du mélange, soit de l'isolement des composés associés à la zone odorante pour en préciser les tonalités aromatiques. Après l'évaluation des extraits de vins liquoreux par pCPG-O et de compte tenu de l'importance de la fraction 37 avec ses notes de « fruits confits » et d'orange confite, la prochaine étape a concerné l'analyse de cette fraction obtenue par CLHP semi préparative dans la mesure où elle présente une composition moins complexe qu'un extrait brut.

Dans l'aromagramme de la fraction 37, les zones odorantes d'orange confite étant éluées entre 36 et 40 minutes, il a été possible d'établir la zone de piégeage. Différents tests

d'omission ont alors été effectués tout en appliquant la pCPG-O. Le premier test sur la fraction 37 a été divisé en deux parties. Le premier échantillon constituait une modalité de piégeage global sans le piégeage entre 36 et 40 minutes [pGCf (0-36+40-82,66)] et le deuxième l'échantillon piégeage dans la période de 4 minutes [pGCf (36-40)]. Pour les tests d'omission suivants, la fraction 37 a été divisée en trois parties. Le premier échantillon concernait la fraction pGCf (0-36), le deuxième échantillon la fraction pGCf (36-40) et, le troisième échantillon la fraction pGCf (40-82,66).

Différents tests triangulaires ont été présentés à notre panel pour valider la différence au niveau aromatique (**Tableau 22**).

Tableau 22 : Résultats des tests triangulaires à partir des fractions pCPG-O préparées (extrait fraction 37)

Echantillons comparés		Différence	Vin	Panel
pGCf (36-40)	pGCf (0-36+40-82,66)	*	1	2
pGCf (0-36)	pGCf (40-82,66)	*	1	2

pGCf : fraction de la CPG préparative ; *, significatif au seuil de 1%.

Les tests triangulaires ont montré des différences significatives entre les échantillons. L'importance de la fraction pGCf (36-40) a été confirmée au niveau des fractions CLHP. De plus, la composition de la fraction pGCf (36-40) semble aussi importante pour la perception de la fraction 37.

Le panel a ensuite été sollicité pour fournir des descripteurs. Avec le premier test d'omission, les descripteurs favorisés pour l'échantillon pGCf (0-36+40-82,66) étaient pâte d'amande, odeur herbacé et végétale alors que pour l'échantillon pGCf (36-40) les descripteurs étaient l'orange confite et l'abricot sec (**Figure 14**).

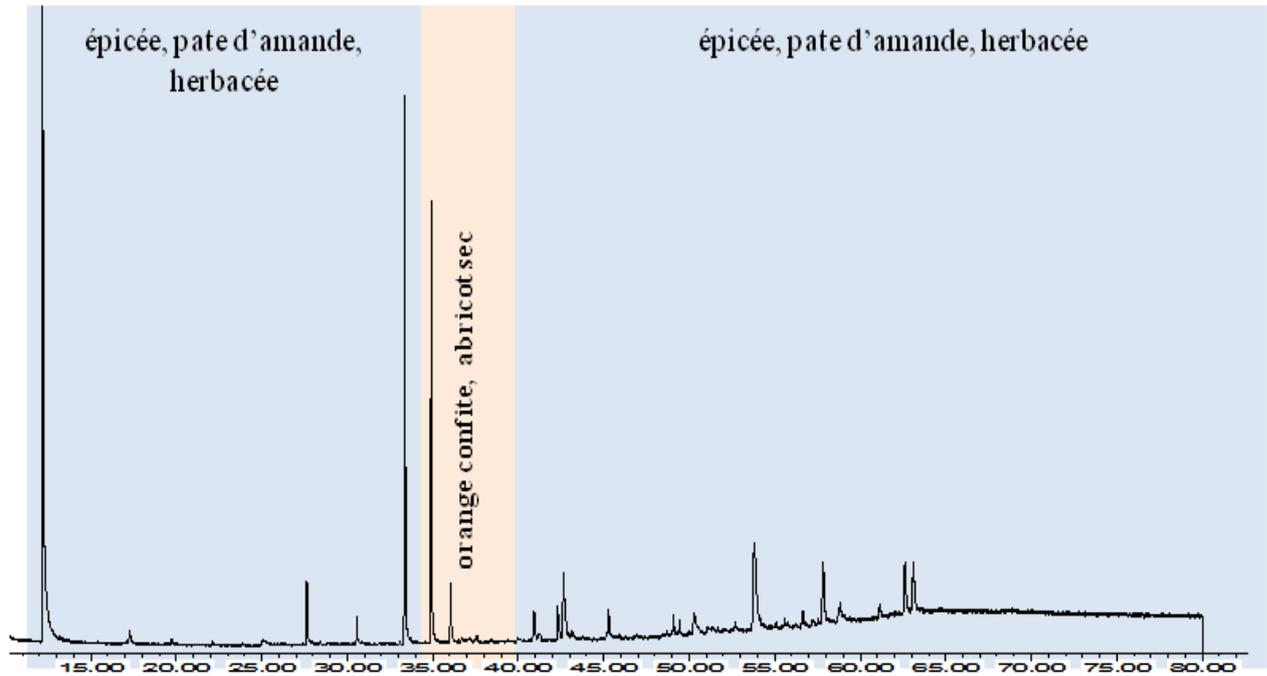


Figure 14 : Descripteurs utilisés par le panel pour les fractions pCPG-O à partir de l'extrait de la fraction 37

Concernant le deuxième test d'omission, les échantillons présentent des arômes différents, excepté l'échantillon pGCf (36-40) qui évoque l'arôme d'orange confite et l'abricot sec. L'échantillon pGCf (0-36) présente des notes herbacées et végétales alors que l'échantillon pGCf (40-82,66) évoque des notes épicées et cuites (**Figure 15**).

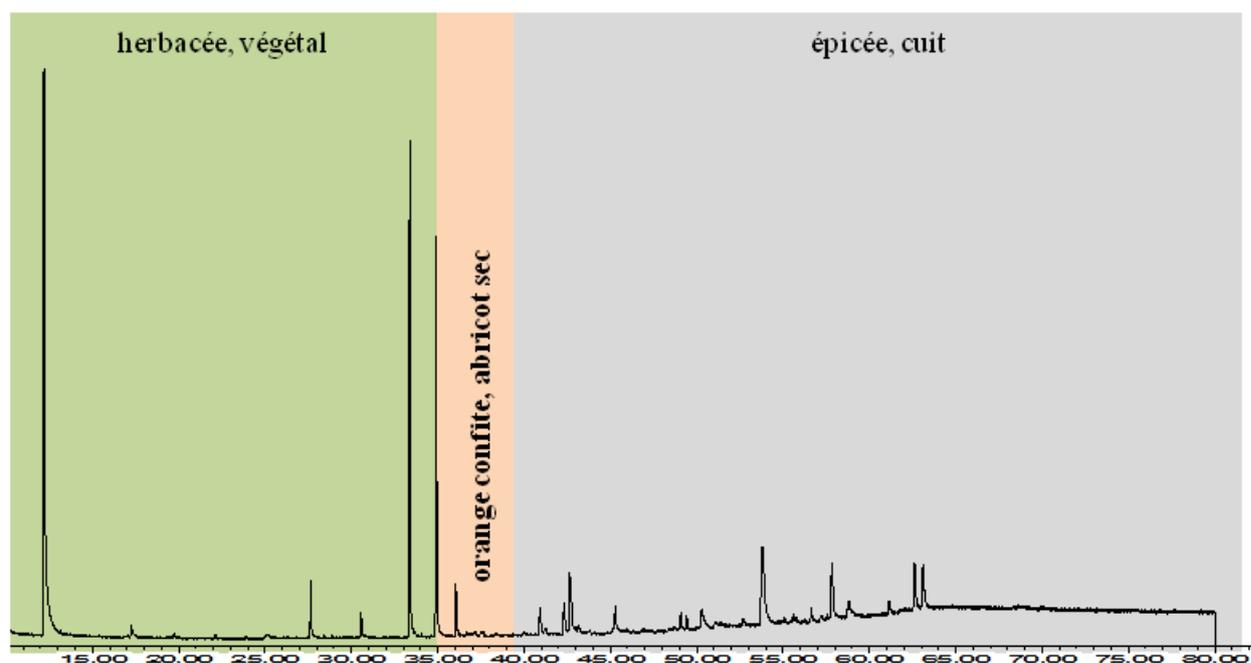


Figure 15 : Descripteurs utilisés par le panel pour les fractions pCPG-O à partir de l'extrait de la fraction 37

La confrontation des résultats de la fraction 37 avec ceux obtenus pour l'extrait brut de vin liquoreux montre que la zone odorante d'intérêt, évoquant l'« orange confite » est toujours piégée, quel que soit l'échantillon considéré.

5.2.2.2 Analyse d'un extrait brut de vin liquoreux de pourriture noble

L'analyse de l'aromagramme d'un extrait brut du vin liquoreux « typé » sur colonne de type HP5 permet de mettre en évidence une zone odorante assez persistante, située entre les indices de rétention linéaire 1394 et 1450 (36-40 minutes), qui rappelle des arômes d'orange et de fruits « confits ». Après avoir validé les zones odorantes d'intérêt avec trois sujets différents, une zone de piégeage pendant 4 minutes (36 à 40 minutes) a été établie. Puis différents échantillons ont été présentés au panel afin de mesurer les différences olfactives dans le cadre de tests triangulaires (**Tableau 23**).

Tableau 23 : Résultats des tests triangulaires effectués à partir des fractions pCPG-O (extrait brut)

Echantillons comparés		Différence	Vin	Panel
pGCf (0-82,66)	Extrait brut	-	1	2
pGCf (0-82,66)	pGCf (0-36+40-82,66)	*	1	2

pGCf : fraction de la CPG préparative ; *, significatif au seuil de 1% ; -, aucune différence significative.

Les différents systèmes de piégeage ont été évalués par le panel et une différence significative a été constatée entre les échantillons pGCf (0-82,66) et pGCf (0-36 et 40-82,66). Ce résultat met en évidence l'importance de la fraction « fruits confits » sur l'expression aromatique de l'extrait de brut dont l'omission de cette fraction particulière change la perception aromatique de manière significative. Ces indications montrent l'effet majeur des composés associés à cette fraction dans l'expression aromatique des vins liquoreux.

Il est à noter qu'il n'y a pas de différence significative entre l'échantillon correspondant au piégeage total de l'extrait brut et l'extrait lui-même. Ce résultat confirme le bon fonctionnement de notre appareil et de la méthode utilisée. Ainsi, il ne semble pas y avoir de dégradation de composés volatils par injection splitless, ou avec le protocole de piégeage cryogénique.

Parallèlement aux tests triangulaires, des tests descriptifs libres ont été effectués. Les descripteurs favorisés pour l'échantillon pGCf (0-82,66) étaient « fruits confits », agrumes, floral, caramel, miel et sucre cuit alors que pour l'échantillon pGCf (0-36+40-82,66) les descripteurs étaient le miel, fromage, levure et épicé. Concernant l'échantillon pGCf (36-40) des descripteurs de « fruits confits », d'orange et d'abricot sec ont été cités (**Figure 16**).

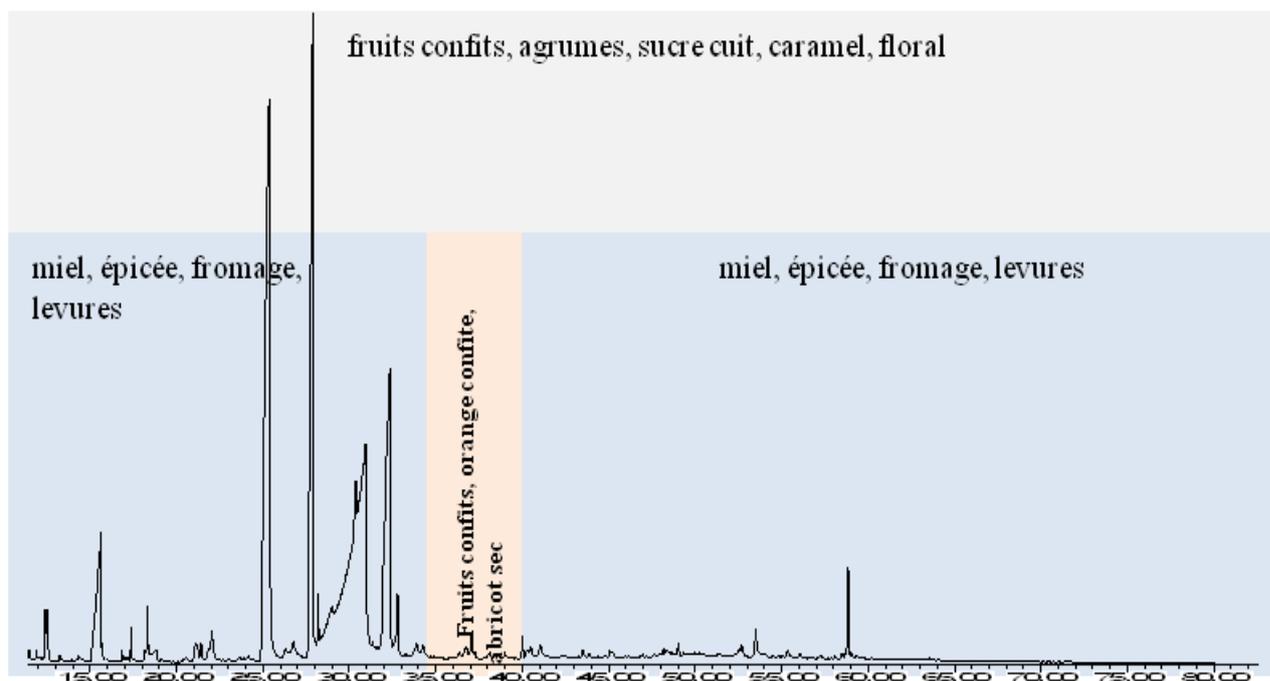


Figure 16 : Descripteurs cités par le panel pour les fractions pCPG-O à partir de l'extrait brut

Ainsi, des différences marquantes dans la perception olfactive des échantillons sont établies. L'omission de la note « fruits confits » dans l'échantillon pGCf (0-36+40-82,66) a été notée. Le principe de ce test étant de valider l'importance de zones odorantes mises en évidence par GC-olfactométrie, les expériences conduites valident bien l'importance des composés associés aux zones odorantes de fruits confits et d'orange. Ils semblent être des composés « clés » pour l'expression de l'arôme des vins liquoreux.

5.2.2.3 Comparaison de la fraction « orange confite » entre un vin liquoreux « typé » et « non-typé »

Le but de cette expérience est de comprendre si la zone odorante rappelant l'« orange confite » (Colonne HP5, ILR : 1394-1434) est spécifique des vins liquoreux typés et ou peut être détectée dans des vins qui ne le sont pas. Concrètement, au cours de l'analyse d'un extrait de fraction 37 pour des vins blancs secs et liquoreux, la même zone de piégeage (ou coupe) a été effectuée pour les deux vins sur les fractions 37. La partie choisie de l'aromagramme

sélectionnée se situait entre 36 et 40 minutes. La première analyse sensorielle a été l'évaluation directe des différents pièges dans le cadre d'un test triangulaire (**Tableau 24**).

Tableau 24 : Résultats des tests triangulaires à partir des fractions pCPG-O effectuées (fraction 37, vin typé et vin non typé)

Echantillons comparés		Différence	Vin	Panel
pGCf (36-40) vt	pGCf (36-40) vnt	**	1+2	2

pGCf : fraction de la CPG préparative ; vt : vin typé ; vnt : vin non typé ; **, significatif au seuil de 0.1%.

Après l'évaluation des fractions, une différence significative est notée entre les échantillons. Cette différence s'établit d'abord dans l'appréciation du niveau d'intensité, celui-ci étant plus important dans l'extrait de vin typé. Des tests descriptifs avec un vocabulaire libre ont ensuite été réalisés (**Tableau 25**). Pour la fraction de vin typique, les descripteurs étaient orange confite, abricot sec, épicé et cuit, tandis qu'ils rappelaient les fruits frais, et des notes citronnées et herbacées pour le vin non typique.

Tableau 25 : Descripteurs utilisés pour les fractions pCPG-O préparées (fraction 37, vin type et vin non typé)

Echantillons	Descripteurs	Vin	Panel
pGCf (36-40) vt	Orange confite, abricot sec, épicé, cuit	1	2
pGCf (36-40) vnt	Fruits frais, citronné, herbacé	2	2

pGCf : fraction de la CPG préparative ; vt : vin typé ; vnt : vin non typé

5.3 DISCUSSION-CONCLUSION

La technique de la pCPG-O a permis, par des expériences de reconstitution et d'omission, d'évaluer l'importance sensorielle de certaines zones odorantes typiques rappelant l' « orange confite » dans les extraits de vin liquoreux de pourriture noble. Ces observations ont été faites à partir d'extrait de la fraction 37 obtenue après CLHP d'un extrait de vin et aussi avec l'extrait brut. Cette technique garantit ainsi d'isoler les composés volatils après leur séparation chromatographique afin d'étudier leur contribution sensorielle. La méthode d'omission est donc un outil important pour apprécier l'impact sensoriel d'un composé volatil séparé des autres composés. Par ailleurs, ces expériences de recombinaison et d'omission peuvent être conduites facilement. Alors que cette méthode associe chimie analytique et analyse sensorielle, elle fournit des informations importantes pour la compréhension multidisciplinaire de l'arôme. Cette technique permet l'analyse des propriétés sensorielles d'une matrice complexe comme le vin.

**6 CARACTERISATION DE COMPOSES ASSOCIES A DES
NOTES DE « FRUITS CONFITS » DANS DES EXTRAITS
DE VINS LIQUOREUX - ROLE PARTICULIER DU 2-
NONEN-4-OLIDE**

6.1 INTRODUCTION

Les vins liquoreux de pourriture noble sont caractérisés par une large palette de nuances aromatiques qui évoquent notamment les agrumes, les fruits confits, et le miel. Des composés volatils provenant de diverses familles chimiques et présentant des notes typiques de vins liquoreux de pourriture noble ont été identifiés et dosés (Sarrazin, 2007 ; Sarrazin *et al.*, 2007ab). Leur contribution à l'arôme a pu être établie en particulier par l'étude des liens entre le niveau de concentration des composés et la typicité de l'arôme (Sarrazin, 2007 ; Sarrazin *et al.*, 2008). Cependant, l'interprétation de nuances aromatiques de « fruits confits » dans les grands vins liquoreux de pourriture, en particulier associés aux notes d'agrumes confits et d'écorce d'orange n'a pas été élucidée.

Ainsi, en employant des approches analytiques complémentaires de celles utilisées par Sarrazin (2007), il a été possible d'isoler par CLHP des fractions aromatiques présentant des notes des « fruits confits », typiques des vins liquoreux de pourriture noble (fraction 37 et 38). Puis, grâce à l'approche traditionnelle de CPG olfactométrie sur les fractions sélectionnées, une zone odorante évoquant l'orange confite a pu être mise en évidence. Ainsi, ce chapitre concerne la caractérisation des composés associés aux notes des fruits confits dans les fractions 37 et 38 obtenus à partir d'extrait des vins liquoreux.

Dans un premier temps, par l'utilisation des techniques chromatographiques multidimensionnelles, la caractérisation de composés associés à l'arôme des fruits confits a été effectuée. La seconde partie concerne la quantification des composés impliqués dans différents types de vins.

6.2 IDENTIFICATION PAR MDCPG-O-SM DE COMPOSES VOLATILS ASSOCIES AUX FRACTIONS CLHP 37 ET 38, OBTENUS A PARTIR D'EXTRAITS DE VINS LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE

Comme précédemment décrit, l'application de la CLHP semi préparative a permis d'obtenir 50 fractions, à partir d'un extrait de vin, chacune avec ses propres propriétés sensorielles. Ainsi, a-t-il été possible de souligner les tonalités aromatiques d'agrumes confits

et d'orange associées aux fractions 37 et 38. Aussi, afin de caractériser les composés associés à l'arôme d'orange confite retrouvé préférentiellement dans la fraction 37, celle-ci ainsi que la fraction 38 ont été extraites avec du dichlorométhane et les extraits obtenus ont été analysés par CPG-O à la fois sur colonne polaire de type BP20 puis colonne apolaire de type HP5. Les résultats ont montré l'intérêt de l'utilisation de la colonne HP5 pour mettre en évidence une zone odorante « orange confite », perçue pendant environ 1 minute dans une zone chromatographique située entre 1414 et 1443 ILR (chapitre 4) ce qui n'était pas possible sur colonne BP20. A ce stade, l'utilisation de la CPG-O-SM multidimensionnelle a été nécessaire pour analyser cette matrice complexe, afin d'identifier le ou les composé(s) associé(s) à cette zone odorante.

6.2.1 Analyse de la fraction 37 et de la fraction 38 à partir des différents extraits de vins liquoreux de pourriture noble

6.2.1.1 Analyse de la fraction 37

L'équipement de chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle comprend un premier chromatographe (CPG-1) installé avec une colonne apolaire de type HP5, puis un second chromatographe avec une colonne analytique de type BP20 ou BP1. Grâce à l'olfactomètre du CPG-1 (correspondant à 10% du flux gazeux de la pré-colonne) il a été possible de sélectionner une coupe chromatographique « heart cut » de trois minutes au niveau de laquelle l'odeur orangée était clairement perçue (temps de rétention de 21 à 23 minutes) pour la transférer sur la colonne analytique.

La séparation de cette fraction sur la colonne analytique a permis de mettre en évidence plusieurs zones odorantes potentiellement associées à l'odeur orangée. Ces zones odorantes rappellent soit la noix de coco, soit des notes épicées, clou de girofle, ainsi qu'une note fruitée de pêche au sirop. Grâce au couplage simultané de CPG-2 à un détecteur de masse (HP5973, Agilent), et parallèlement à la détection olfactométrique, il a été possible d'identifier les composés correspondant à ces zones odorantes, qui sont les deux isomères du 3-méthyl-4-octanolide, l'eugénol et la γ -nonalactone.

L'analyse de la même coupe chromatographique sur colonne apolaire (BP1) par MDCPG-O-SM a conduit aux mêmes conclusions.

Une quatrième zone odorante a aussi été établie. Elle présente des notes mentholées et fruitées et correspond à un pic chromatographique obtenu à un temps de rétention de 57,40 minutes (**Figure 17**). L'indice linéaire de rétention (ILR) pour la quatrième zone odorante est de 2068 pour la colonne BP20.

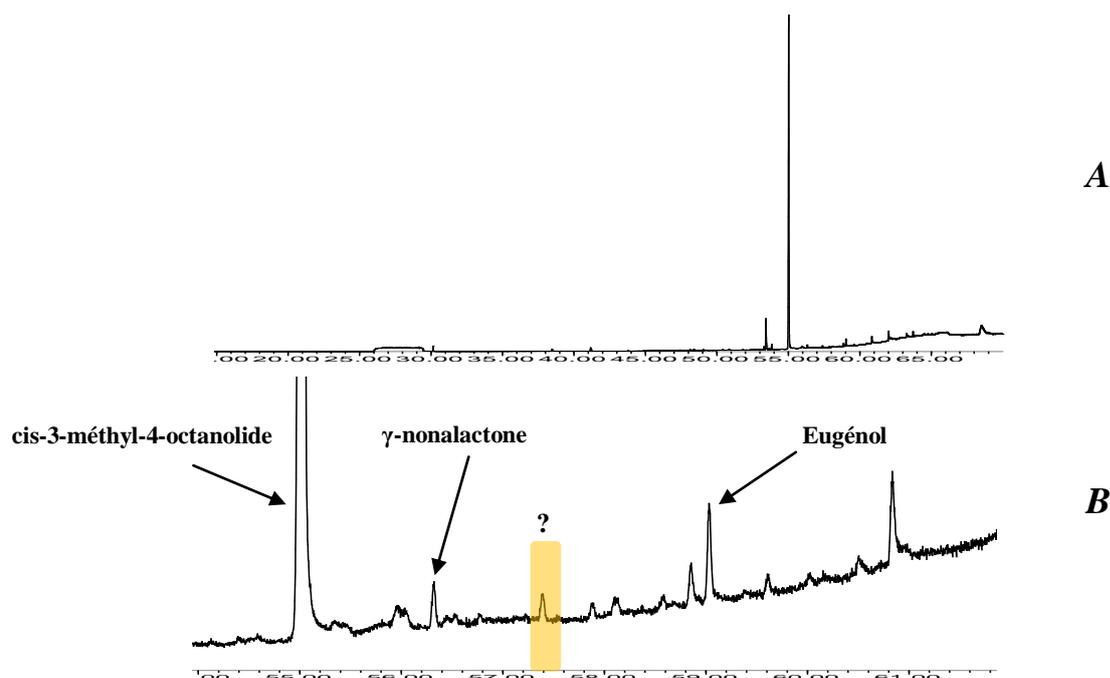


Figure 17 : Chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne BP20 (polaire) de la fraction 37, d'un vin liquoreux de pourriture noble, par CPG multidimensionnelle (A). Focus sur chromatogramme A et mise en évidence des pics chromatographiques correspondant aux zones odorantes (B)

La validation de cette zone odorante et la correspondance avec un pic chromatographique a aussi été établie sur une colonne analytique apolaire (BP1) avec un ILR de 1368 (**Figure 18**).

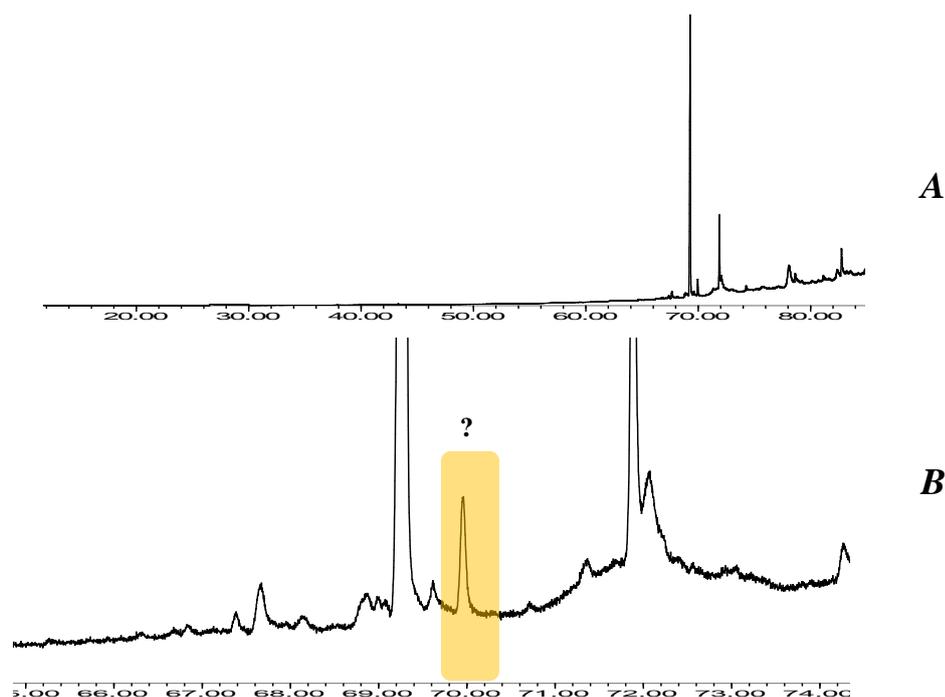


Figure 18 : Chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne BP1 (apolaire) de la fraction 37, d'un vin liquoreux de pourriture noble, par CPG multidimensionnelle (A). Focus sur la partie du chromatographe avec la zone odorante correspondant à un composé inconnu (B)

Le temps de rétention de cette dernière zone odorante correspond donc sur les deux colonnes chromatographiques à un pic chromatographique dont l'interprétation du spectre de masse avec la banque de donnée NIST 2008 (NIST) n'a pas permis de proposer une identification cohérente.

Le couplage du système de chromatographie multidimensionnelle a aussi été effectué avec un spectromètre de masse Temps de Vol Haute résolution (SMTOF) de marque Jeol (Japon) en mode impact électronique (70 eV) et en mode d'ionisation chimique. Les analyses par couplage MDCPG-SMTOF en mode d'ionisation chimique (méthanol), ont permis de situer l'ion moléculaire du composé considéré. La masse moléculaire exacte a été calculée à $M=154,099 \pm 0,05$ Da, correspondant à une formule moléculaire $C_9H_{14}O_2$. De plus, les indices Kovats pour le composé ont été calculés (BP20 : 2068, HP5 : 1414, BP1 : 1368)

Grâce à la collaboration avec Dr Eric Frérot (Firmenich S.A ; Genève, Suisse) la zone odorante et le pic chromatographique associé ont été identifiés comme une lactone, **2-nonen-4-olide ou 5-pentyl-5H-furan-2-one (CAS : 27963-26-8)**. Le 2-nonen-4-olide ou 5-pentyl-

5H-furan-2-one est une molécule préalablement identifiée dans plusieurs aliments comme les champignons avec une composante aromatique fruitée (Jong & Birmingham 1997 ; Lisarraga *et al.*, 1997), l'huile du tournesol (Gullen *et al.*, 2008), la pastèque (Beaulieu & Lea, 2006), le bouillon de bœuf (Christlbauer & Schieberle, 2009) et enfin dans le tabac (Weeks *et al.*, 1989).

Les spectres de masse du 2 nonen-4-olide obtenus à partir de l'extrait de vin (fraction 37) et du produit pur, obtenus au même temps de rétention chromatographique, présentent les mêmes caractéristiques (**Figure 19**).

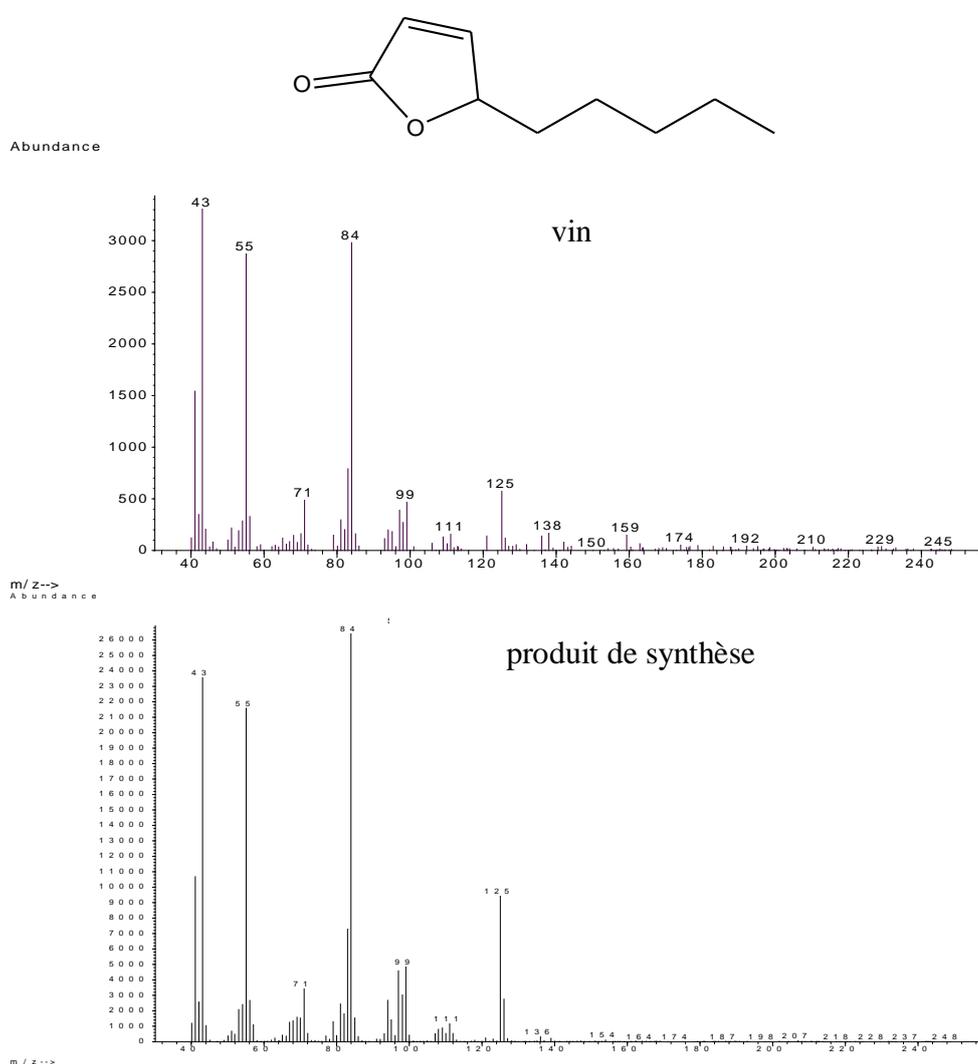


Figure 19: Structure chimique et spectres de masse du 2-nonen-4-olide obtenus à partir d'un extrait de vin et par l'analyse du produit de synthèse

La présence de ce composé n'a pas pu être démontrée en utilisant les mêmes conditions analytiques pour un extrait de vin blanc sec (**Figure 20**). Ainsi ces résultats donnent une indication de la spécificité de cette molécule dans les vins liquoreux.

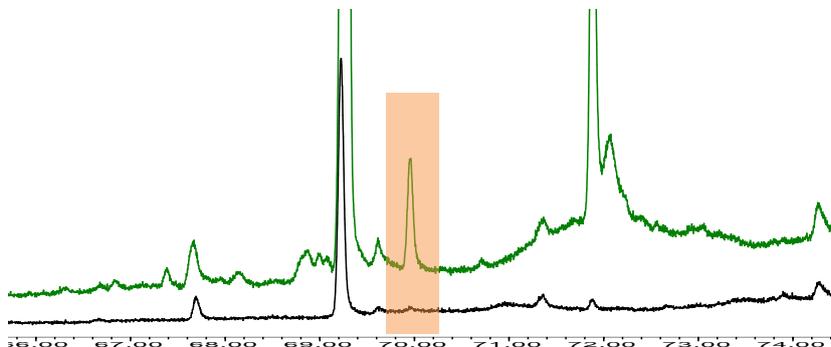


Figure 20 : Chromatogrammes obtenus suite à l'analyse sur une colonne BP1 de la fraction 37, d'un vin liquoreux (vert) et d'un vin blanc sec du même cépage (noir) par CPG multidimensionnelle (précolonne HP5)

6.2.1.2 Analyse de la fraction 38

L'analyse de la fraction 38 par CPG olfactométrie a permis de mettre en évidence différentes zones odorantes évoquant des notes fruitées et zestées. L'attention s'est portée, lors de l'analyse olfactométrique avec la précolonne (HP5), sur une zone de fruits confits. La sélection d'une coupe chromatographique « heart cut » et la chromatographie couplée à la fois à la spectrométrie de masse et à un mode de détection olfactométrique ont permis de mettre en évidence des zones de noix de coco, épicé (clou de girofle) et fruité correspondant aux pics chromatographiques des isomères du 3-méthyl-4-octanolide, de l'eugénol et de la γ -nonalactone, respectivement (**Figure 21**). L'analyse de l'extrait de la fraction 38 ne permet pas de détecter le 2-nonen-4-olide.

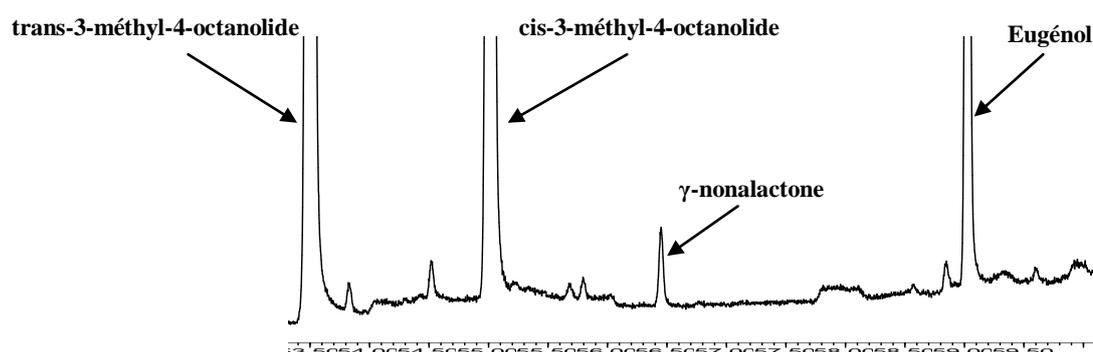


Figure 21 : Focus du chromatogramme obtenu suite à l'analyse sur une colonne BP20 de la fraction 38, d'un vin liquoreux de pourriture noble, par CPG multidimensionnelle

La présence de 3-méthyl-4-octanolide et d'eugénol est tout à fait logique pour les vins élevés en barriques ainsi que de la γ -nonalactone pour des extraits provenant de vins liquoreux de pourriture noble. Les travaux de Sarrazin (2007) ont montré l'importance de la γ -nonalactone et des deux isomères du 3-méthyl-4-octanolide comme les lactones les plus abondantes des vins liquoreux de pourriture noble. Les analyses ont été répétées avec l'injection des autres extraits de vins de pourriture noble (Château Cantegril 2005, Château Clos Haut Peyraguey 2007 et Château Laville 2007)

6.3 ETUDE DES PROPRIETES SENSORIELLES DU 2-NONEN-4-OLIDE ET DOSAGE DES COMPOSES ASSOCIES A L'AROME DE « FRUITS CONFITS » DANS LES VINS LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE

6.3.1 Détermination du seuil de perception olfactive du 2-nonen-4-olide

Des tests sensoriels ont été réalisés par le panel de dégustateurs (15 personnes) de l'Unité de recherche Œnologie, ISVV afin de déterminer le seuil de perception olfactive du 2-nonen-4-olide. Le seuil de perception du composé est déterminé selon le protocole décrit dans la partie « matériel et méthodes ». Le 2-nonen-4-olide est ajouté en quantités croissantes, soit de 0,5 $\mu\text{g/L}$ à 256 $\mu\text{g/L}$ afin d'obtenir dix concentrations différentes. Les calculs pour les seuils

de perception ont été faits par la méthode de calcul issue de la norme NF ISO 13301 : 2002 (AFNOR 2007). 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 (**Figure 22**).

Les résultats de l'analyse sensorielle résumés dans le **Tableau 26** indiquent un seuil de perception olfactive à 4,3 µg/L en solution modèle et à 10,8 µg/L dans un vin liquoreux qui ne présente pas de nuances initialement de fruits confits. Le 2-nonen-4-olide présente le plus faible seuil de perception des lactones identifiées dans les vins, à l'exception de la « wine lactone » (Guth, 1997).

Tableau 26 : Seuil de perception olfactive (µg/L) du 2-nonen-4-olide déterminés par le panel de l'ISVV (15 personnes)

Composé	Pureté	Description olfactive	Seuil de perception olfactive	
			Solution modèle	Vin
2-nonen-4-olide	>99%	Fruité/mentholé	4,3	10,8

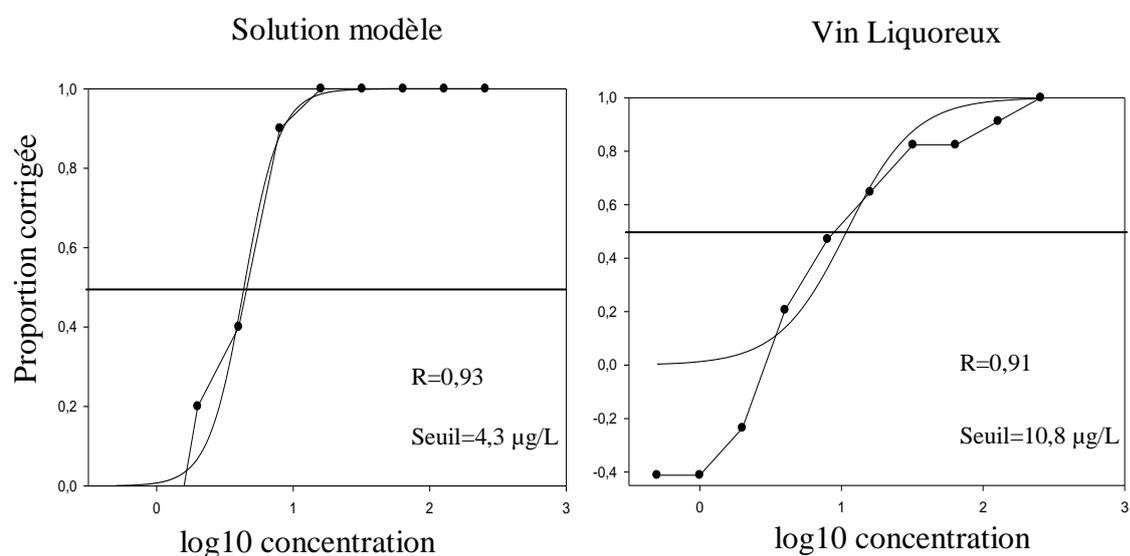


Figure 22 : Courbes sigmoïdales pour les calculs de seuils de perception olfactive en solution modèle et dans un vin liquoreux

Par ailleurs, il est intéressant de noter que les descripteurs sensoriels pour cette lactone changent selon les concentrations. Pour des concentrations faibles (2,5-20 µg/L), le descripteur principal est fruité et mentholé, tandis que pour les teneurs élevées (\pm 100 µg/L), comme avec beaucoup de lactones, les descripteurs rappellent la noix de coco et le beurre. Il faut noter que la molécule possède un carbone asymétrique et le seuil de perception pourrait changer selon la nature de l'énantiomère considéré.

6.3.2 Dosage des Lactones et de l'Eugénol. Mise au point et validation d'une méthode de dosage du 2-nonen-4-olide dans les vins

6.3.2.1 Dosages des lactones et de l'eugénol

Afin de doser les lactones nous avons repris la méthode de quantification décrite par Ferreira *et al.* (2004) pour les vins blancs secs et validée par Sarrazin (2007) pour doser les lactones des vins liquoreux. Les isomères du 3-méthyl-4-octanolide et la γ -nonalactone ont été dosés selon le même protocole validé par Sarrazin (2007) pour les vins liquoreux de pourriture noble. Le dosage de l'eugénol a aussi été réalisé par le même protocole. Les caractéristiques de la méthode de dosage de l'eugénol sont résumées dans le **Tableau 27**.

Tableau 27 : Paramètres de la courbe de calibration de l'eugénol

Composé	Répétabilité	Courbe de calibration	R ²	Gamme de linéarité (µg/L)	Limite de quantification (µg/L)
Eugénol	2,5%	y=0,0422x+0,0038	0,9964	0,1-80	0,1

Les composés sont dosés par CPG-SM en mode de sélection d'ions (SIM). La séparation chromatographique est réalisée sur une colonne de type BP20 dans les conditions détaillées dans le chapitre « matériels & méthodes ». Les isomères de 3-méthyl-4-octanolide sont dosés avec l'ion m/z : 99, le γ -nonalactone avec l'ion m/z : 85 alors que l'eugénol est quantifié avec

l'ion m/z : 164. Les résultats ont montré une corrélation linéaire entre les concentrations des composés et l'aire des signaux.

6.3.2.2 Mise au point d'une méthode de dosage du 2-nonen-4-olide

Afin de doser cette nouvelle lactone, nous avons repris la méthode de quantification décrite par Ferreira *et al.* (2004) pour les vins blancs secs et validée par Sarrazin (2007) pour doser les lactones des vins liquoreux et nous avons vérifié qu'elle permettait son dosage. Des gammes étalons ont été préparées en supplémentant 50 mL de vin blanc avec cinq concentrations croissantes de 2-nonen-4-olide allant de 0,5 à 20 $\mu\text{g/L}$. Pour chaque concentration, la lactone est extraite selon la méthode précédemment décrite (matériels et méthodes).

Une courbe étalon est construite sur la base d'une corrélation linéaire entre les concentrations et le rapport de l'aire du pic d'intérêt sur celle de l'étalon interne (**Tableau 28**). Le coefficient de détermination R^2 est supérieur à 0,99. Ce résultat vérifie donc l'hypothèse de la linéarité de la réponse et de la concentration en 2-nonen-4-olide. Le 2-nonen-4-olide est quantifié par CPG-SM sur une colonne DB1 en mode de sélection d'ions (mode SIM). L'ion sélectionné pour la quantification de la lactone 2-nonen-4-olide correspond à l'ion : $m/z = 84$.

La répétabilité est déterminée à partir d'une série de huit extractions. Le coefficient de variation du dosage, indiqué dans le **Tableau 28**, est à 1,4% ce qui est satisfaisant. Le **Tableau 28** précise, en outre, la limite de quantification du composé correspondant à la concentration minimale générant un signal dix fois supérieur au bruit de fond. Enfin, le taux de récupération de la lactone 2-nonen-4-olide est supérieur à 80% quelle que soit la quantité de lactone ajoutée.

Tableau 28 : Paramètres de la courbe de calibration de 2-nonen-4-olide.

Composé	Répétabilité	Courbe de calibration	R^2	Gamme de linéarité ($\mu\text{g/L}$)	Limite de quantification ($\mu\text{g/L}$)
2-nonen-4-olide	1,4%	$y=0,2778x+0,0135$	0,9975	0,5-20	0,5

L'ensemble de ces résultats valide donc la méthode de quantification pour la lactone 2-nonen-4-olide. En conséquence, il nous est possible de l'appliquer pour quantifier ce composé dans les vins liquoreux de pourriture noble.

6.3.3 Quantification des Lactones et de l'Eugénol dans différents vins blanc

6.3.3.1 Quantification de la nouvelle lactone 2-nonen-4-olide

Différents vins de millésimes 2001 à 2010 de la région bordelaise ont été quantifiés selon la méthode précédemment validée. En comparaison, six vins blancs secs d'appellations différentes (millésimes 2006 à 2008) ont été analysés ainsi que des vins liquoreux extérieurs à Bordeaux élaborés *a priori* sans développement de la pourriture noble. (**Tableau 29**).

Tableau 29 : Quantification de la lactone 2-nonen-4-olide ($\mu\text{g/L}$) dans des vins liquoreux et vins blancs secs de différents millésimes (2001-2011)

Millésime	Vins	Appellation	2-nonen-4-olide
2009	Château d'Yquem	Sauternes	4,1 \pm 0,3
2010	Château d'Yquem	Sauternes	5 \pm 0,2
2006	Castelnau de Suduiraut	Sauternes	11,6 \pm 0,1
2002	Château LaTour Blanche	Sauternes	18,2 \pm 0,3
2005	Château LaTour Blanche	Sauternes	5,5 \pm 0,2
2001	Château Lamothe	Sauternes	3,7 \pm 0,2
2001	Château Malfourat	Sauternes	2,6 \pm 0,4
2003	Château Laville	Sauternes	3,6 \pm 0,1
2005	Château Laville	Sauternes	6,5 \pm 0,2
2007	Château Laville	Sauternes	7,7 \pm 0,2
2005	Château de Malle	Sauternes	7,7 \pm 0,1
2006	Dauphiné Rondillon	Loupiac	5,2 \pm 0,7
2007	Dauphiné Rondillon	Loupiac	4 \pm 0,6
2008	Dauphiné Rondillon	Loupiac	4,5 \pm 0,1
2010	Domaine Rouquette	Loupiac	2,3 \pm 0,1
2009	Domaine Cauhapé	Jurançon	1,6 \pm 0,3
2010	Domaine Cauhapé	Jurançon	1,3 \pm 0,1
2011	Domaine Cauhapé	Jurançon	1,5 \pm 0,2
2009	Cave de Crouseilles	Pacherenc du Vic Bihl	1,4 \pm 0,1
2007	Domaine Laroche	Chablis	n.d
2006	Jean Moreau et fils	Chablis	n.d
2007	Billaud Simon	Chablis	n.d
2008	Château Thieuley	Bordeaux	n.d
2008	Château Bonnet	Entre Deux Mers	n.d
2008	Domaine Albert Mann	Alsace	n.d

Ainsi, des teneurs en 2-nonen-4-olide situées entre 2 et 18 $\mu\text{g/L}$ ont été mesurées selon les différents millésimes dans des vins liquoreux de pourriture noble des (2 à 18 $\mu\text{g/L}$) (**Tableau 29**). L'analyse quantitative des vins met aussi en évidence la présence de cette lactone dans des millésimes plus anciens. En accord avec les analyses menées par CPG multidimensionnelle, il apparaît bien que la lactone 2-nonen-4-olide est une lactone spécifique des vins liquoreux. Les résultats de quantification montrent clairement l'absence de cette lactone dans les vins blancs secs. Dans les vins liquoreux de Jurançon élaborés après passerillage des raisins de cépages petit Manseng et gros Manseng principalement, les teneurs en 2-nonen-4-olide sont généralement inférieures à celles dosées dans les vins liquoreux de pourriture noble. Ainsi, cette lactone ne semble pas uniquement associée aux cépages Sauvignon blanc et Sémillon dans la mesure où elle a été détectée dans des vins de Petit Manseng.

Les résultats de la quantification de la lactone 2-nonen-4-olide montrent que les teneurs retrouvées dans les vins liquoreux sont bien supérieures à son seuil de perception. La lactone 2-nonen-4-olide présente des valeurs OAV supérieures à 1. Nous en déduisons que la lactone a nécessairement un impact sensoriel dans l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble. L'impact sensoriel de cette lactone, dans le cadre d'interactions perceptives sera traité de manière plus approfondie dans le chapitre 7.

6.3.3.2 Quantification des lactones et d'eugénol

Onze vins liquoreux de la région bordelaise ont été extraits et dosés afin d'évaluer leur concentration en lactones et en eugénol.

Les résultats de quantification sur les vins liquoreux montrent des concentrations abondantes de ces composés (**Tableau 30**). Les concentrations de γ -nonalactone trouvées dans les vins sont en accord avec celles rapportées par Sarrazin (2007). On trouve des concentrations de γ -nonalactone inférieures à son seuil de perception (25 $\mu\text{g/L}$; Appell, 1969) à l'exception de deux vins qui présentent des concentrations égales ou supérieures à son seuil de perception.

Tableau 30 : Quantification des lactones et de l'eugénol ($\mu\text{g/L}$) dans les vins liquoreux

Millésime	Vins	Appellation	trans WL	cis WL	γ -nonalactone	Eugénol
2009	Château d'Yquem	Sauternes	440 \pm 2	780 \pm 4	11,1 \pm 0,5	59,1 \pm 1,5
2010	Château d'Yquem	Sauternes	316 \pm 2	625 \pm 3	13,4 \pm 0,6	60 \pm 1,3
2003	Château Laville	Sauternes	177 \pm 1	338 \pm 2	16,1 \pm 1,3	28,6 \pm 0,9
2005	Château Laville	Sauternes	119 \pm 2	186 \pm 2	22,4 \pm 1,2	17,1 \pm 0,6
2001	Château Malfourat	Sauternes	3,2 \pm 0,2	5,1 \pm 1	17,3 \pm 0,8	1,6 \pm 0,1
2001	Château Lamothe	Sauternes	88 \pm 1	174 \pm 2	30,5 \pm 1,2	17,6 \pm 0,8
2005	Dauphiné Rondillon	Loupiac	54 \pm 1	111 \pm 2	18,3 \pm 1,1	7,3 \pm 0,1
2006	Dauphiné Rondillon	Loupiac	62 \pm 1	141 \pm 1	19,0 \pm 1,3	11,2 \pm 0,1
2007	Dauphiné Rondillon	Loupiac	39 \pm 0,4	121 \pm 1	12,3 \pm 0,2	11,0 \pm 0,2
2009	Dauphiné Rondillon	Loupiac	21,8 \pm 1	52,6 \pm 1	10,7 \pm 0,1	4,8 \pm 0,2
2010	Domaine Rouquette	Loupiac	0,2 \pm 0,1	2,2 \pm 0,2	10,1 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1

WL : Whisky Lactone ou 3-méthyl-4-octanolide ; tr : traces

Concernant les composés du bois et plus particulièrement les isomères de 3-méthyl-4-octanolide (whisky lactone), on constate des valeurs assez variables. Le dosage des mêmes composés par Sarrazin (2007) a montré des concentrations beaucoup plus faibles que celles rapportées dans notre étude. Un élément d'interprétation pourrait être associé au fait que les concentrations en 3-méthyl-4-octanolide et en eugénol sont fortement liées à l'élevage en barriques et dépendent de la nature du bois employé (Chatonnet, 1995). Aussi, des variations au niveau des teneurs en composés du bois, peuvent exister selon les pratiques œnologiques appliquées au cours de l'élevage.

Dans les échantillons, les concentrations en 3-méthyl-4-octanolide et en eugénol sont supérieures dans la plupart des cas au seuil de détection olfactive (104 $\mu\text{g/L}$ trans 3-méthyl-4-octanolide, 40 $\mu\text{g/L}$ cis 3-méthyl-4-octanolide, Chatonnet, 1995 ; 11 $\mu\text{g/L}$ pour eugénol; Ferreira *et al.*, 1998). Par conséquent, les composés du bois comme le 3-méthyl-4-octanolide et l'eugénol sont aussi des composés actifs dans l'expression aromatique des vins liquoreux. Par ailleurs, par rapport aux échantillons analysés par Sarrazin (2007), une proportion plus importante des vins analysés présente pour ces composés des valeurs OAV supérieures à 1.

6.4 DISCUSSION-CONCLUSION

L'analyse par chromatographie monodimensionnelle de l'extrait de la fraction 37 a montré la présence d'une zone odorante évoquant l'« orange confite », qui n'est pas détectée dans l'extrait de la fraction 38. Cependant, avec l'analyse de cette fraction sur la colonne analytique de la CPG multidimensionnelle (2^{ème} colonne), il n'a pas été possible d'identifier une zone odorante évoquant cette note aromatique.

Cependant, l'utilisation de la CPG multidimensionnelle a permis l'identification du composé 2-nonen-4-olide jusqu'alors inconnu dans le vin. Ce composé possède une odeur à la fois de menthe et de fruité. La détermination de son seuil de détection olfactive et son dosage dans différents vins a conduit dans un premier temps à estimer son impact sensoriel. Le 2-nonen-4-olide présente ainsi dans les vins liquoreux de pourriture noble des concentrations supérieures au seuil de perception olfactive et semble donc être un composé actif dans l'expression aromatique de ces vins. Dans la mesure où ce composé n'est pas détecté dans les vins blancs secs, il semble spécifique des vins liquoreux de pourriture noble de différents cépages et est resté peu abondant (< 2 µg/L) dans les vins élaborés à partir de raisins seulement passerillés. Comme les précurseurs des lactones sont sous formes d'acides gras, dans le cas de la 2-nonen-4-olide la transformation de l'acide linoléique par la lipoxygénase dans les plantes, a été rapportée (Fuganti *et al.*, 1995).

L'analyse en CPG multidimensionnelle sur colonne analytique des composés associés à la zone odorante « orange confite », a aussi montré, en complément du 2-nonen-4-olide, l'existence de molécules telles que le 3-méthyl-4-octanolide, la γ -nonalactone, l'eugénol à des niveaux de concentrations supérieurs au seuil de détection olfactive. Du fait qu'aucune des ces molécules ne possède l'odeur d'orange confite, il semble que l'association de ces molécules puisse générer cet arôme. Aussi des expériences de reconstitution aromatique et des tests d'omission sont nécessaires pour tenter d'expliquer la perception de l'arôme d'orange confite. Ce sujet est traité dans le chapitre suivant.

**7 MISE EN EVIDENCE DE PHENOMENES
D'INTERACTIONS PERCEPTIVES A PARTIR DE
FRACTIONS D'EXTRAITS DE VINS LIQUOREUX DE
POURRITURE NOBLE**

7.1 INTRODUCTION

Le vin est une matrice complexe, notamment en termes de perceptions sensorielles. Le bouquet du vin, sa spécificité et sa typicité dépendent d'un certain nombre de facteurs en particulier la variété ou cépage, la nature du terroir, les conditions de vinification et d'élevage. Bien que des centaines de composés volatils aient été identifiés dans le raisin ou le vin, il a été démontré que seule une fraction d'entre eux contribue à l'arôme, incluant les composés présents dans les vins à des niveaux de concentration supérieurs aux seuils de perception olfactive. Dans le domaine d'études des arômes, il est généralement considéré que les substances odorantes clés sont celles présentes au-dessus de leur seuil de détection olfactive.

Toutefois, la composante aromatique des vins n'est pas une somme algébrique de composés volatils, aussi odorants soient-ils. Ainsi, il a été montré qu'un mélange de composés volatils, appartenant à la même famille chimique, par exemple monoterpènes, lactones, thiols présentant des notes d'agrumes, peut conduire à la perception d'un niveau d'intensité d'odeur, beaucoup plus important que celui obtenu avec un seul composé pris isolément (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1975 ; Escudero *et al.*, 2004 ; Jarauta *et al.*, 2006 ; Sarrazin *et al.*, 2007b). Parfois même, la présence de substances odorantes, à une concentration inférieure à leur valeur de seuil de détection peut avoir une incidence sur le bouquet global (Pineau *et al.*, 2009 ; Lytra *et al.*, 2013). Un tel effet sensoriel peut résulter d'interactions perceptives lors de l'intégration de l'information olfactive, et ce dès qu'un mélange de substances odorantes atteint la muqueuse olfactive.

Cependant, les phénomènes d'interactions perceptives obtenus par la combinaison de plusieurs composants volatils restent difficiles à prédire, en solution simple et *a fortiori* dans une matrice complexe telle que le vin. Selon Godinot (1999), alors que certains composés dans un mélange odorant peuvent prédominer ou imposer leurs qualités sur le mélange, d'autres ont la tendance à disparaître et devenir non identifiables. Les arômes reposent généralement sur la perception des mélanges multi composants parfois très complexes. Pourtant ces mélanges sont souvent perçus comme ayant une note unique du fait d'un accord aromatique entre les odorants. La notion d'accord aromatique a été mise en évidence chez l'homme adulte, avec des mélanges allant de 2 à 6 composés (Le Berre *et al.*, 2008 ; Le Berre *et al.*, 2010 ; Barkat *et al.*, 2012).

Dans ce chapitre, nous nous intéressons à étudier le comportement des composés associés à l'odeur d'orange confite qui ont pu être identifiés dans les fractions 37 et 38 obtenues lors de l'analyse des vins liquoreux par CLHP. Ensuite, nous étudions le comportement de ces composés seuls ou en mélange avec d'autres composés marqueurs dans une matrice simple.

7.2 EXPERIENCES DE RECONSTITUTION AROMATIQUE ET D'OMISSION AVEC DES FRACTIONS ISSUES DE VINS LIQUOREUX TYPES ET NON TYPES

L'intensité globale de l'arôme, la perception des notes d'orange confite, et le niveau de typicité de vins liquoreux de Bordeaux ont été évalués sur une échelle non-structurée de 0 à 10 dans laquelle 0 correspond à aucune odeur perçue et 10, haute intensité perçue. Dans le cas de la typicité, l'échelle est considérée comme tel : 0 = mauvais exemple de vin liquoreux de Bordeaux et 10 = bon exemple des vins liquoreux de Bordeaux. Différents échantillons de reconstitutions aromatiques en solution hydroalcoolique ont ainsi été présentés. Deux types de vins liquoreux ont été sélectionnés initialement par le Panel 1, un vin liquoreux qualifié de typique de vin liquoreux de pourriture noble de Bordeaux [vin (1), matériels et méthodes] et un vin non typique (millésime 2010) (Domaine de Rouquette, Loupiac, 2010).

Lors de la première séance de l'analyse sensorielle, les fractions correspondaient à celles d'un vin liquoreux « typé » et les composés volatils (3-méthyl-4-octanolide, eugénol, γ -nonalactone et 2-nonen-4-olide) ont été supplémentés à divers niveaux de concentrations dans les fractions. Lors de la deuxième session d'analyse sensorielle, les fractions correspondaient à celles d'un vin liquoreux « non typé » et les concentrations incorporées étaient liées à celles dosées dans les fractions 37 et 38 de ce vin. Pour la troisième session d'analyse sensorielle, la matrice de vin a été celle du vin « non typé » (échantillon PAR), mais les fractions 37 et 38 utilisées étaient celles du vin « typé », et les concentrations des composés volatils supplémentées correspondaient à celles dosées dans les fractions du vin « typé ». Les détails des modalités d'analyses sensorielles sont décrits dans le chapitre « matériels et méthodes ». Chaque séance d'analyse sensorielle a été répétée en conviant à nouveau le panel pour leur soumettre les mêmes échantillons. Ces répétitions ont toujours montré la même tendance au

niveau des résultats mais pour des raisons de simplicité, seules quelques unes des répétitions sont présentées en figures.

7.2.1 Quantification des composés d'intérêt dans certains fractions de vins liquoreux

Après fractionnement de chaque extrait par CLHP en phase inverse, les composés volatils associés aux notes d'orange confite ont été quantifiés par CPG-SM dans les fractions sélectionnées (**Tableau 31**). Ensuite, sur la base des résultats de quantification, différents types d'expériences de reconstitution ont été menées.

Tableau 31 : Quantification des composés d'intérêt dans les fractions 37 et 38 de deux types de vins liquoreux ($\mu\text{g/L}$; moyenne \pm écart type)

Vins	FRACTIONS CLHP	2-nonen-4-olide	trans 3-méthyl-4-octanolide	cis 3-méthyl-4-octanolide	γ -nonalactone	Eugénol
Typé	F37	10,7 \pm 0,9	81,1 \pm 0,2	95,1 \pm 0,3	tr	9,1 \pm 0,1
	F38	tr	1,8 \pm 0,1	tr	2,9 \pm 0,1	tr
Non-Typé	F37	n.d	tr	0,2 \pm 0,1	tr	0,2 \pm 0,1
	F38	n.d	tr	tr	0,6 \pm 0,2	tr

(n=2); nd: non détecté; tr: traces

Des différences apparaissent dans la composition des différentes fractions obtenues par CLHP selon le type d'échantillon (Vin typé, Vin non typé). Les fractions du vin typé présentent des concentrations beaucoup plus élevées pour les composés d'intérêt. Le 2-nonen-4-olide présent dans les fractions du vin typé, n'est pas détecté dans l'extrait de vin non typé. La même tendance est observée pour les composés du bois tel le 3-méthyl-4-octanolide et l'eugénol associés à l'élevage en barriques du vin typé. Des différences sont aussi notées concernant la concentration de la γ -nonalactone. Globalement, dans les fractions 37 et 38 présentant les notes typiques d'orange et d'agrumes confits, les niveaux de concentrations des composés d'intérêt sont plus faibles que dans les vins. L'analyse est répétable, le coefficient de variation des composés après l'extraction initiale puis fractionnement par CLHP et réextraction avant concentration sous flux d'azote étant situé à un niveau inférieur de 10%

pour l'ensemble des composés cibles (de 2,3% pour la γ -nonalactone à 5,6 pour le trans 3-méthyl-4-octanolide).

7.2.2 Expériences sensorielles de reconstitution et d'omission

7.2.2.1 Cas d'un vin liquoreux de pourriture noble typé

L'impact de composés spécifiques, identifiés et analysés dans un extrait de vin typé, vis à vis de l'expression de l'arôme fruit confit a porté sur la description des notes d'orange confite et sur le niveau de typicité. Notons que toutes les expériences suivantes ont été réalisées par le panel 3.

Dans un premier temps, les expériences ont consisté à étudier l'impact sensoriel lié à l'ajout d'un seul composé d'intérêt aux concentrations dosées dans les fractions 37 et 38, dans la fraction RAP (reconstitution partielle, fractions 1-36+39-50), à savoir 2-nonen-4-olide, 3-méthyl-4-octanolide, eugénol, γ -nonalactone. Dans ces conditions, l'ajout d'un seul composé ne modifie pas de manière significative le niveau d'intensité concernant la perception des notes d'orange confite et le niveau de typicité. (**Figure 23**). Inversement, des valeurs élevées sont notées par le panel 3. Concernant les échantillons de la reconstitution aromatique totale (RAT) et pour la reconstitution des fractions 37 et 38 (37+38). Concernant l'appréciation de la typicité, les résultats montrent des notes élevées pour les échantillons 37 et 38 et RAT.

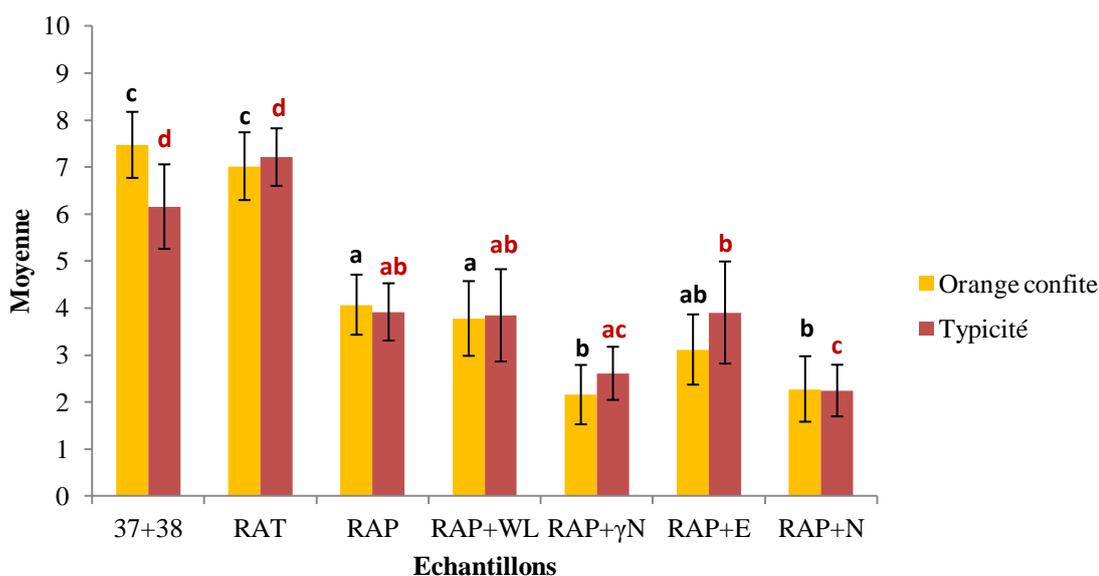
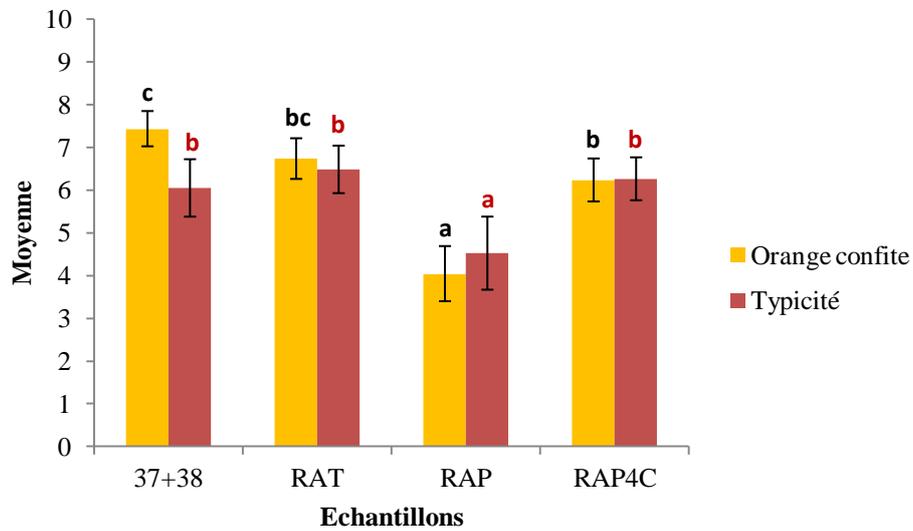


Figure 23 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité (exemple de vin typé)

Dans un second temps, les expériences sensorielles ont concerné la comparaison de l'échantillon de reconstitution aromatique partielle (RAP) avec le même échantillon supplémenté des quatre composés d'intérêt (2-nonen-4-olide, 3-méthyl-4-octanolide, γ -nonalactone, et eugénol), associés en mélange à l'arôme d'orange confite. Dans ces conditions, les résultats des tests sensoriels indiquent une valeur moyenne de 6,23 concernant le niveau de reconnaissance de l'expression d'orange confite dans RAP complétée (RAP4C) et proches de celles retrouvées dans l'échantillon total de reconstitution (RAT) (valeur moyenne 6,73) alors que les valeurs sont beaucoup plus faibles dans la fractions RAP seule (valeur moyenne 4,04) (**Figure 24**). Le mélange des fractions aromatiques 37 et 38 présente une valeur moyenne de 7,43 ce qui confirme nos premiers résultats.

Concernant l'évaluation de la typicité des vins, aucune différence significative n'a été observée entre la reconstitution totale (échantillon RAT) et l'échantillon complété par les quatre composés (RAP4C). Les deux échantillons ont obtenu une valeur moyenne de 6,48 et 6,26 respectivement, mais une valeur beaucoup plus faible pour l'échantillon RAP de l'échantillon a été constaté (valeur moyenne = 4,52) (**Figure 24**).

Session 1



Session 2

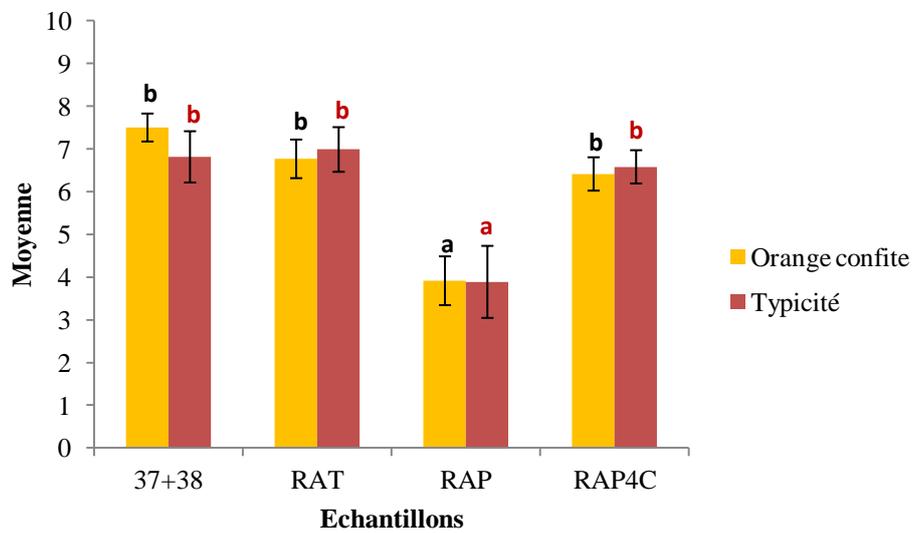
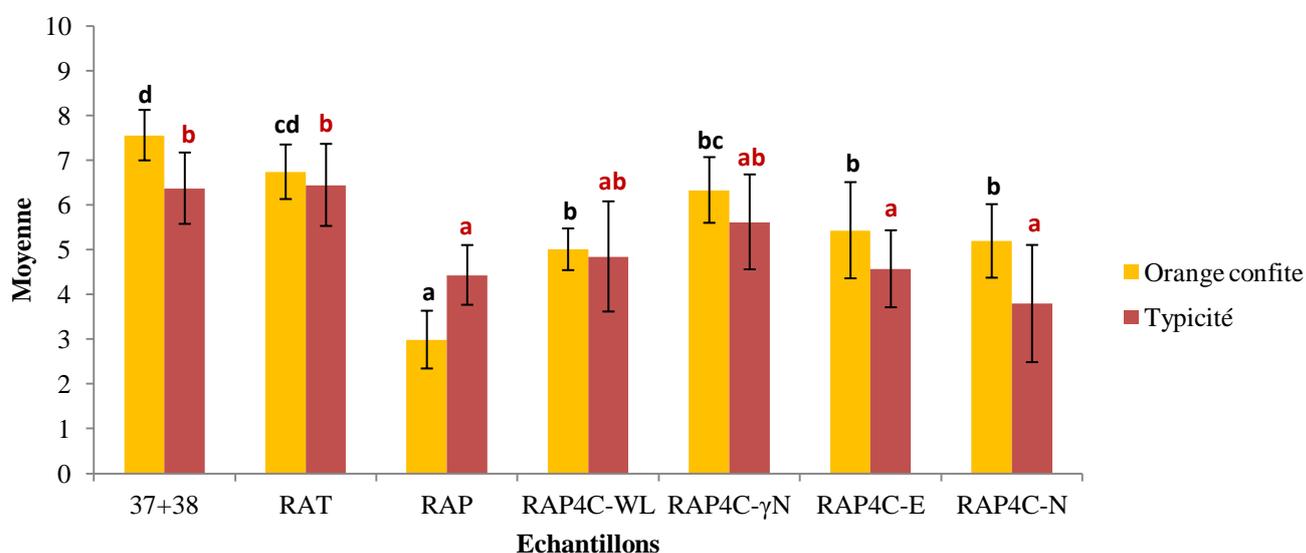


Figure 24 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité en deux sessions différentes (exemple de vin typé)

Pour compléter ces travaux, des expériences sensorielles concernant l'omission de l'un des quatre composés ont été considérées. Dans ces conditions, l'échantillon RAP a une valeur moyenne de 2,98. Lorsque la reconstitution est faite avec 3 des 4 composés supplémentés dans la matrice RAP, l'arôme d'orange confite est toujours perçue à un niveau plus élevé. En particulier, lorsque la γ -nonalactone a été omise, les résultats sont très proches ceux de RAT et des fractions 37 et 38. Ainsi, l'échantillon 37+38 a une valeur moyenne de 7,56 et la reconstitution totale (RAT), une valeur moyenne de 6,74 (**Figure 25**). D'autre part, la reconstitution partielle (sans fractions 37 et 38) présente une valeur moyenne la plus faible à savoir 2,98.

En ce qui concerne l'omission des composés, seul l'échantillon RAP4C- γ N (omission de γ -nonalactone) n'est pas significativement différent de la reconstitution totale (**Figure 25**). Ce résultat contribue à démontrer l'effet direct du 2-nonen-4-olide, de l'eugénol et de 3-méthyl-4-octanolide dans l'arôme d'orange confite de vins liquoreux de pourriture noble, aux concentrations dosées dans des fractions d'extraits de vins typés. Ces résultats montrent aussi l'impact limité, aux concentrations considérées de la γ -nonalactone dans le mélange. Ainsi, l'association du 2-nonen-4-olide et des composés du bois de chêne contribue à générer de nouvelles notes aromatiques telles que l'arôme d'orange confite comme nous en avons initialement formulé l'hypothèse. Cette association des composés constitue à notre connaissance, la première démonstration en œnologie d'un phénomène d'accord aromatique.

Session 1



Session 2

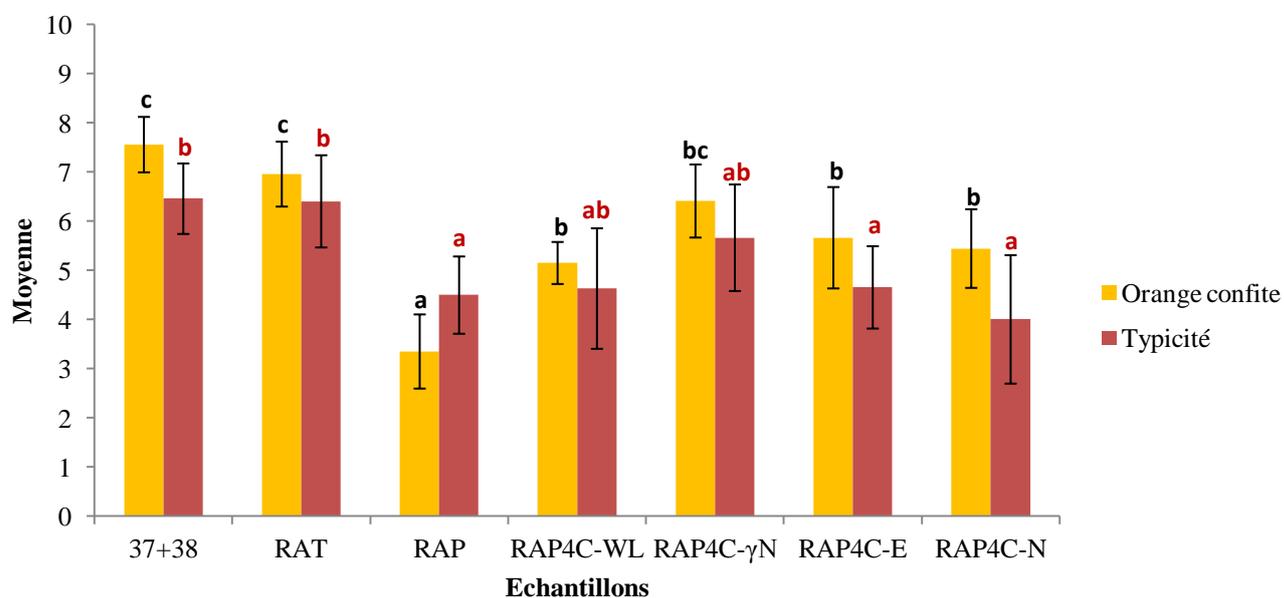


Figure 25 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité lors de tests d'omission dans deux sessions différentes (exemple de vin typé)

D'autre part, les résultats concernant l'appréciation de la typicité des vins indiquent une différence significative entre les échantillons 37+38, les échantillons RAT, RAP, PAR4C-E (omission d'eugénol), PAR4C-N (omission de 2-nonen-4-olide) (**Figure 25**). L'impact du 2-nonen-4-olide, de l'eugénol sur la typicité du vin liquoreux est ainsi établi. En omettant ces composés, inversement, une diminution significative de l'appréciation de la typicité est observée.

Ces résultats contribuent à démontrer l'intérêt de lactones, provenant soit du vin soit du bois de chêne, sur l'arôme d'orange confite et ensuite sur l'appréciation du niveau de typicité de vins liquoreux, mesuré dans notre situation avec des fractions d'extraits de vins. Les lactones de chêne sont des composés aromatiques actifs dans de nombreux fruits (Gatfield et Sommer, 1993). La force du caractère fruité du Cabernet Sauvignon a été qualifiée comme fortement associée à la concentration des lactones de bois de chêne et de l'eugénol (Spillman *et al.*, 2004). Par ailleurs, Jarauta *et al.* (2006) ont souligné les propriétés additives de lactones en mélange dans la perception sensorielle. En outre, des études antérieures ont signalé la contribution du 2-nonen-4-olide dans la saveur fruitée de champignons (Jong & Birmingham, 1997). De plus, l'importance de la lactone 2-nonen-4-olide est soulignée par Kindel *et al.*, (2007) (Brevet US 2007/0297993 A1) comme une molécule importante pour modifier, intensifier l'arôme et la saveur des produits aromatisés. L'association de cette molécule avec d'autres composés peut influencer de manière positive les arômes à expression mentholée ou des coumarines.

7.2.2.2 Cas d'un vin liquoreux de pourriture noble non typé

L'impact sensoriel des composés identifiés, considérés en mélange aux concentrations dosées dans les fractions 37 et 38 d'un vin liquoreux non typé, a aussi été étudié vis à vis de l'expression d'arôme d'orange confite. Comme précédemment décrit, les premières expériences sensorielles concernent l'ajout d'un seul composé sur la reconstitution partielle (RAP). Dans le cas du fractionnement de vin non typé, l'ajout d'un seul composé dans les reconstitutions aromatiques ne montre pas des différences significatives sur la perception d'orange confite (**Figure 26**). En outre, le niveau d'appréciation sensorielle est toujours plus faible que celui obtenu dans le cas d'un extrait de vin typé.

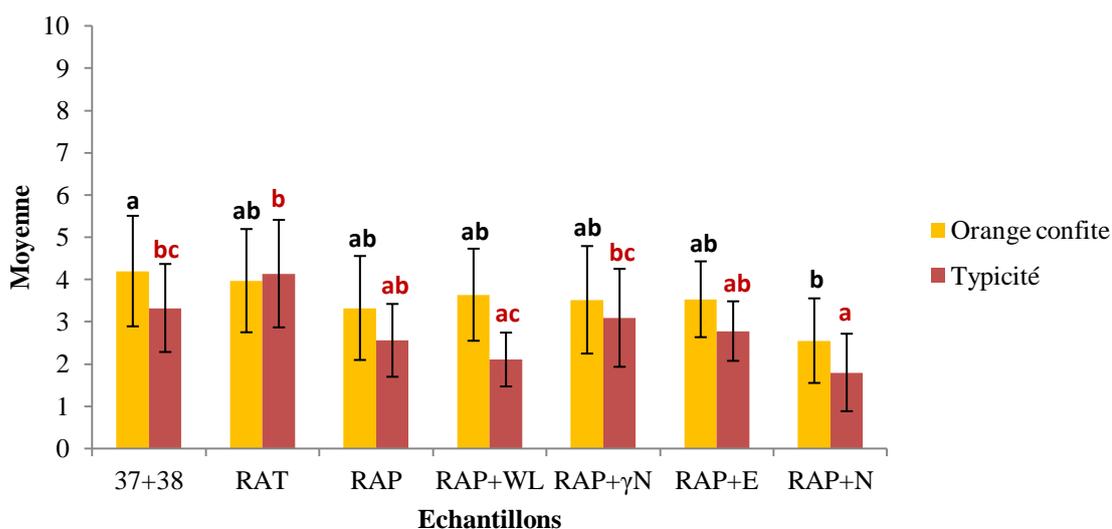


Figure 26 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et du niveau de typicité (exemple de vin non-typé)

Ensuite, une comparaison de l'échantillon RAP4C (Mélange de RAP avec les 4 composés clés aux concentrations dosées dans un extrait de vin non typé) avec les échantillons RAT et RAP ainsi que la reconstitution des fractions 37 et 38, a été effectuée. Pour l'échantillon RAP4C, la note moyenne était de 4,54, soit une valeur significativement plus faible de celle de la reconstitution aromatique totale (RAT = 5,62) (**Figure 27**). D'autre part, tant pour l'appréciation de l'intensité du caractère d'orange confite, que pour le niveau de typicité, les valeurs de reconstitution sont beaucoup plus faibles par rapport à celles déterminées en considérant l'exemple d'un vin typé.

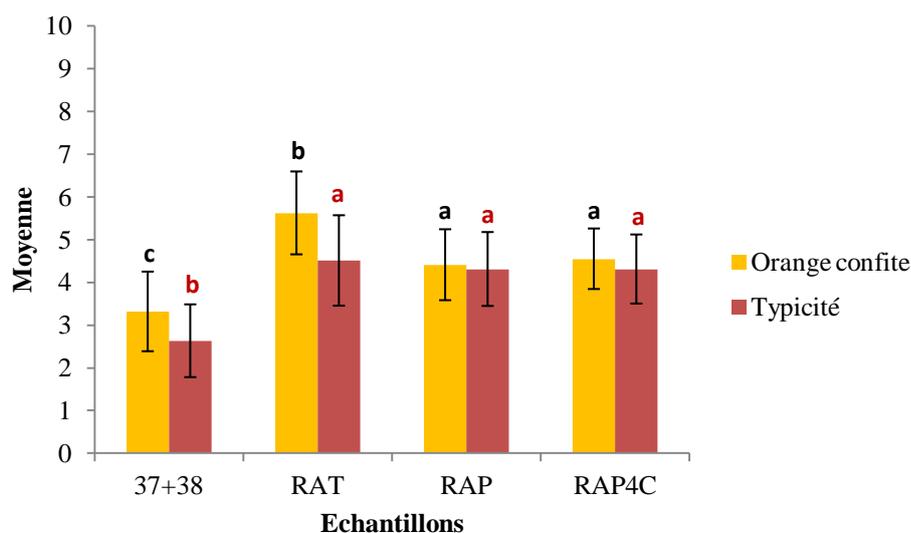


Figure 27 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité (exemple de vin non-typé)

En ce qui concerne l'expérience sensorielle avec l'omission de composés, une différence significative a été démontrée entre les échantillons 37+38, le RAT et le RAP, RAP4C-WL, RAP4C- γ N, RAP4C-E, RAP4C-N (**Figure 28**). Les échantillons 37+38 et le RAT ont les valeurs moyennes les plus élevées pour l'appréciation de l'arôme d'orange confite, respectivement 4,46 et 3,96. Ensuite, les échantillons RAP, RAP4C-WL, RAP4C-N, RAP4C-E, et RAP4C-N possèdent les valeurs moyennes les plus faibles (< à 2,84) (**Figure 28**). L'addition des composés associés à l'arôme d'orange confite dans l'échantillon RAP4C n'a qu'un impact mineur, probablement en raison des faibles concentrations ajoutées.

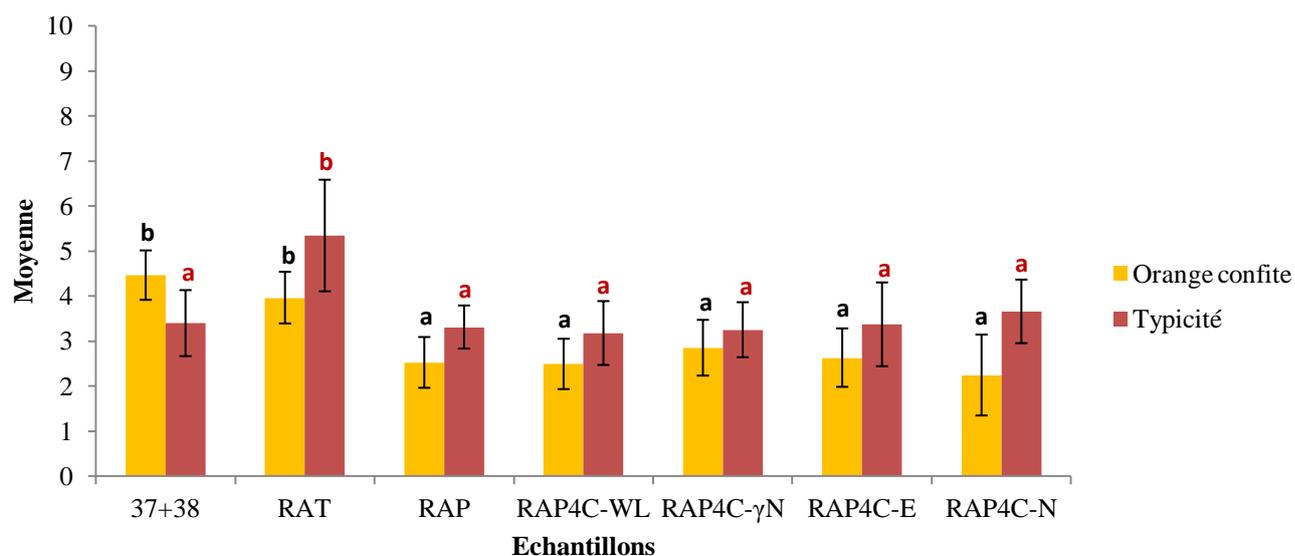


Figure 28 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité lors de tests d’omission (exemple de vin non-typé)

Avec l’appréciation du niveau de typicité, les résultats indiquent une différence significative entre le RAT et les échantillons 37+38, RAP, RAP4C-WL, RAP4C- γ N, RAP4C-E et RAP4C-N (**Figure 28**). La valeur moyenne la plus élevée pour la typicité a été notée pour l’échantillon RAT (5.34) (**Figure 28**). En conclusion, l’appréciation de l’arôme d’orange confite et de la typicité, présente des notes beaucoup plus faibles que celles déterminées lors de la première session d’analyse sensorielle avec les concentrations d’un vin typé. Ces résultats montrent que les concentrations de composés ajoutées semblent ne pas avoir un effet significatif sur la perception aromatique recherchée.

7.2.2.3 Cas d’un mélange d’extrait de vin non typé (matrice non typée) et de composés d’intérêt aux concentrations dosées dans un vin typé

Dans cette expérience sensorielle, la perception de l’arôme d’orange confite a été étudiée dans la matrice du vin non typé en ajoutant les concentrations des composés dosées dans le vin typé. Les premières expériences sensorielles concernent l’impact des composés seuls sur la perception de l’arôme d’orange confite. La vérification que l’ajout des composés seuls sur la reconstitution aromatique partielle (RAP), ne peut pas générer l’arôme d’orange confite, est

établie (**Figure 29**). Les reconstitutions des fractions 37, 38 et RAT présentent bien des valeurs significativement plus élevées par rapport les autres échantillons. De même, l'appréciation du niveau de la typicité est aussi significativement différente.

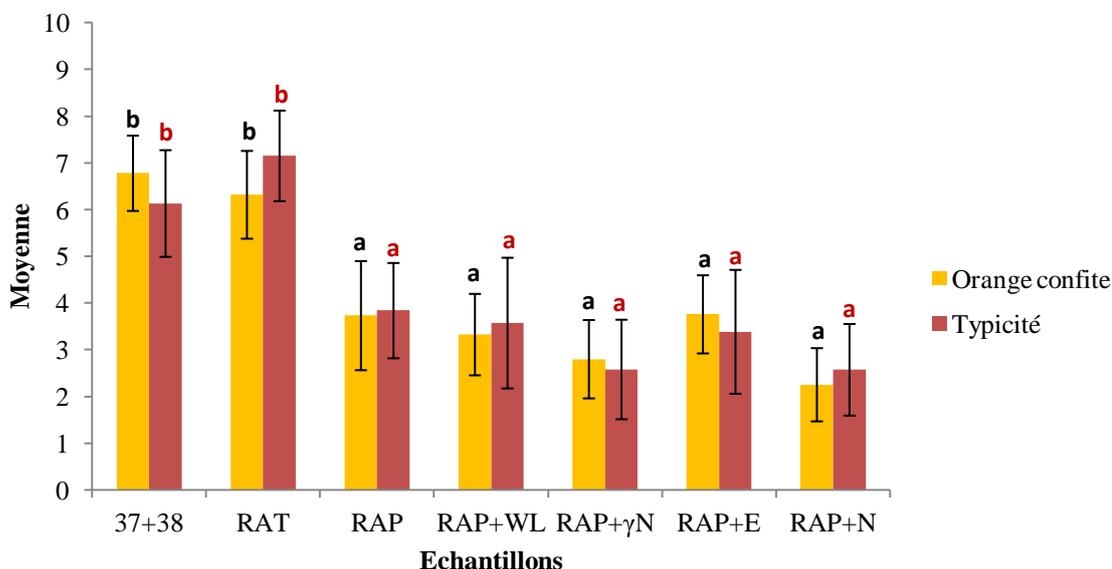


Figure 29 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité (exemple du mélange)

L'échantillon de reconstitution aromatique partielle (RAP) supplémenté avec les quatre composés (RAP4C) présente une valeur moyenne de 6,06. Cette valeur n'est pas significative par rapport à la valeur de RAT ce qui souligne l'effet sensoriel lié à la recombinaison avec les quatre composés d'intérêt. Lorsque les composés ne sont pas présents dans la matrice (RAP), la perception de l'arôme d'orange confite est significativement différente avec une note moyenne de 3,28 (**Figure 30**). De même, une différence significative dans le niveau typicité des échantillons a été observée entre l'échantillon RAP et l'échantillon RAP4C, qui n'est pas jugé différent de RAT (**Figure 30**). Ainsi, les différentes matrices peuvent influencer la perception de la typicité des vins.

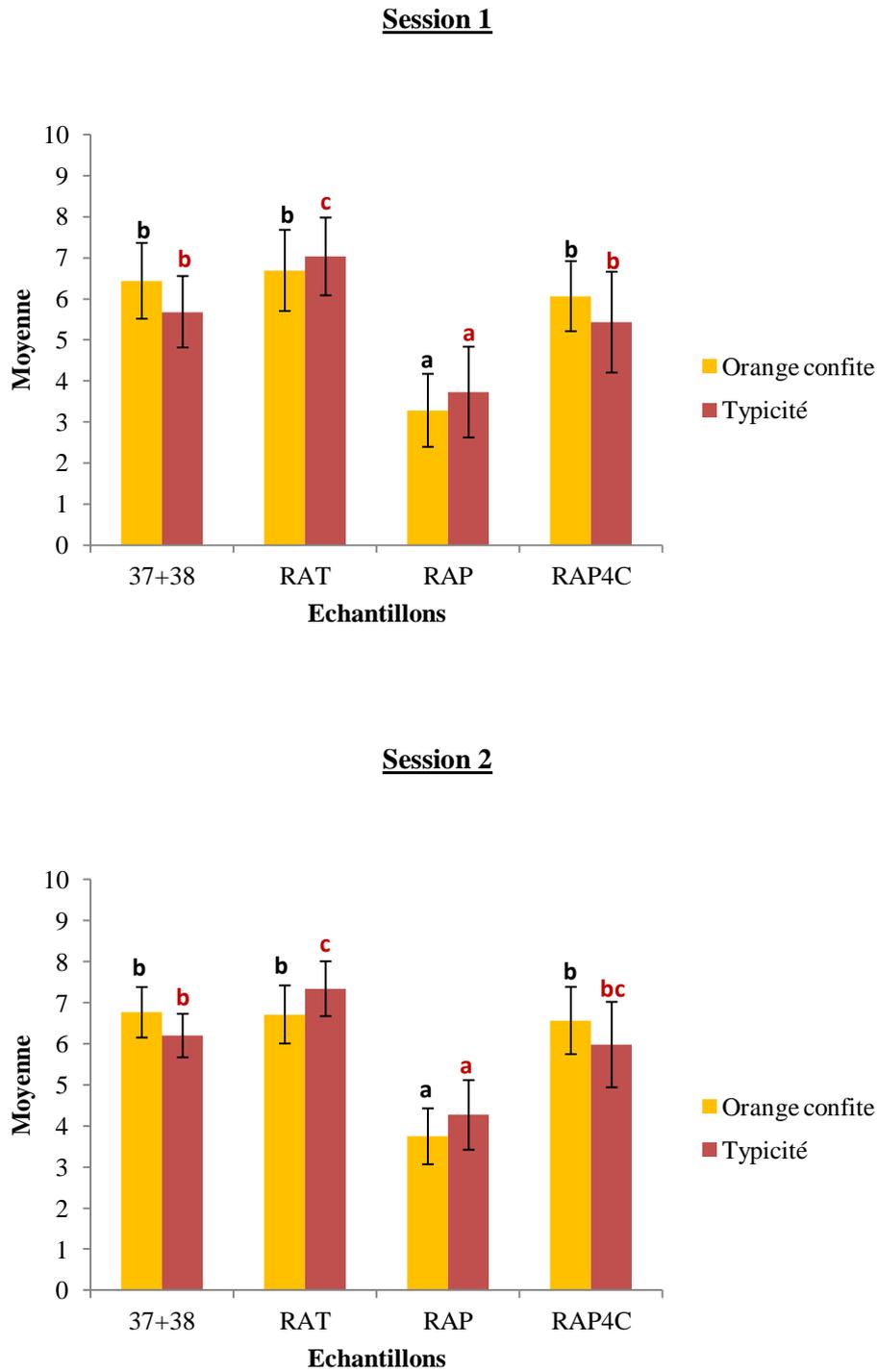
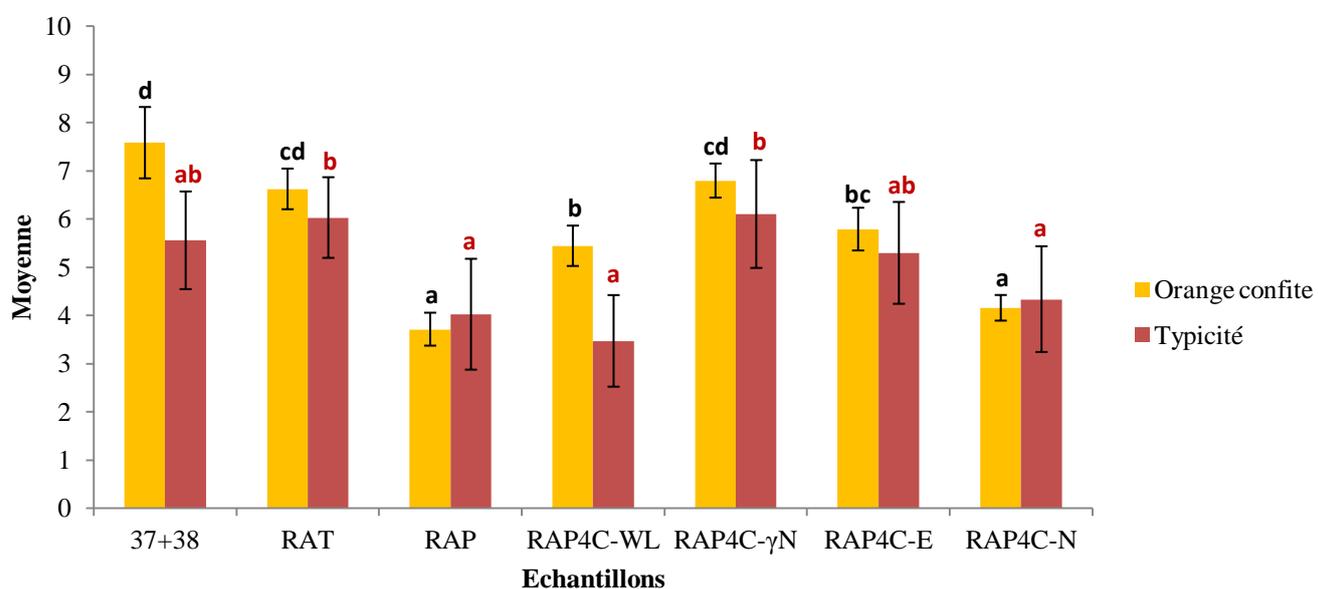


Figure 30 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité dans deux sessions différentes (exemple du mélange)

En ce qui concerne l'expérience sensorielle avec l'omission de composés, contrairement à l'expérience précédente (avec l'utilisation de la matrice du vin typé), l'omission de l'eugénoï ainsi que l'omission de la γ -nonalactone, comme préalablement décrit, n'ont pas d'impact significatif. Les échantillons RAP4C- γ N et RAT présentent une appréciation similaire concernant l'arôme d'orange confite (**Figure 31**). Dans ces conditions, les échantillons 37+38, RAT et RAP4C- γ N ont des valeurs moyennes élevées de 7,58, 6,62 et 6,79 respectivement (**Figure 31**). Par contre, lorsque le 2-nonen-4-olide, le 3-méthyl-4-octanolide ou l'eugénoï sont omis, les valeurs moyennes sont plus faibles (**Figure 31**). Ainsi, l'impact du 2-nonen-4-olide, du 3-méthyl-4-octanolide et de l'eugénoï dans la perception de l'arôme d'orange confite est confirmé.

Session 1



Session 2

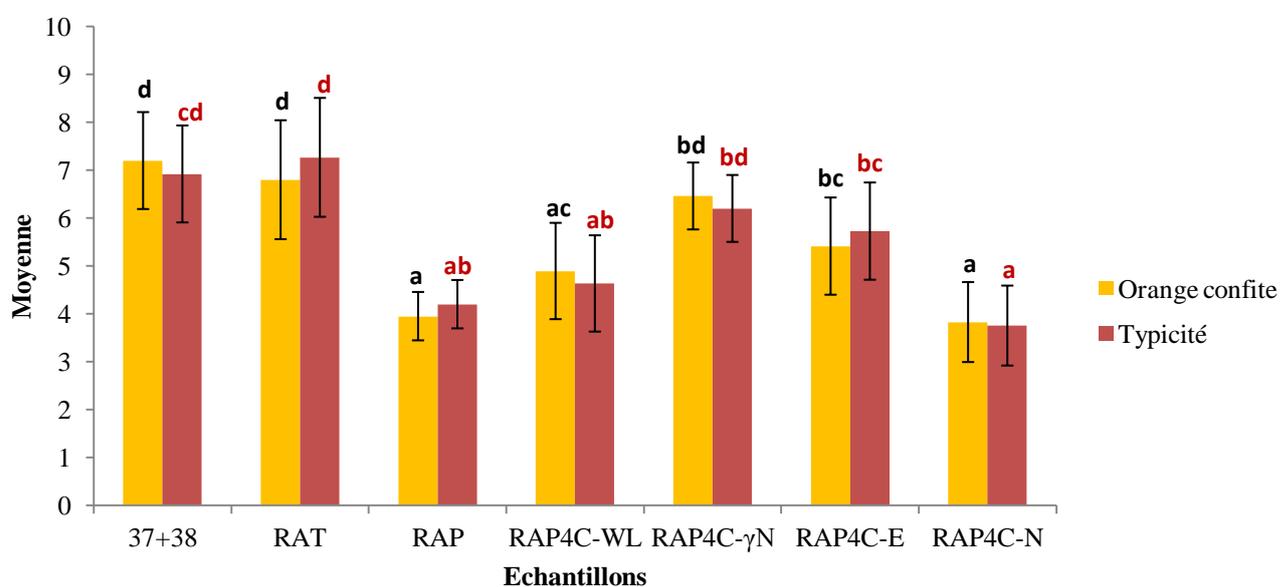


Figure 31 : Intensité moyenne de descripteurs orange confite et typicité lors de tests d'omission dans deux sessions différentes (exemple du mélange)

Concernant l'appréciation du niveau de typicité, d'une part, une différence significative est notée entre l'échantillon RAP4C-N, RAP4C-WL et les autres échantillons. Ainsi l'impact du 2-nonen-4-olide et du 3-méthyl-4-octanolide sur la typicité des vins liquoreux est confirmée (**Figure 31**). Par ailleurs, l'omission de la γ -nonalactone n'a pas d'effet sur l'appréciation du niveau de typicité.

En conclusion, grâce à la caractérisation des déterminants moléculaires associés à l'arôme d'orange confite, le rôle privilégié de deux lactones, l'une provenant du bois, l'autre associé à la pourriture noble ont été soulignés ainsi que sur le niveau de typicité de vins liquoreux de Bordeaux. L'association entre les lactones du bois (3-méthyl-4-octanolide) et de lactone de pourriture noble (2-nonen-4-olide) semble ainsi créer un accord aromatique remarquable. Aux concentrations considérées, l'eugénol semble présenter une moindre contribution ainsi que la γ -nonalactone. Ces travaux ouvrent de nouveaux chemins pour l'interprétation de la complexité des arômes du vin et de la typicité des vins.

7.3 EXPERIENCES DE RECONSTITUTION AROMATIQUE EN SOLUTION MODELE. L'ETUDE DE L'ACCORD AROMATIQUE D'ORANGE CONFITE DANS LES VINS LIQUOREUX DE POURRITURE NOBLE

Dans cette partie, nous nous intéressons à étudier le comportement du mélange des quatre composés qui ont préalablement été associés à l'arôme d'orange confite, dans une solution simple telle une solution hydroalcoolique (12% vol., pH 3,5). Dans un premier temps, des expériences de reconstitution et d'omission ont été effectuées en n'utilisant que les composés de référence (3-méthyl-4-octanolide, eugénol, 2-nonen-4-olide, γ -nonalactone). Ensuite, l'impact sensoriel d'autres composés dans le mélange a été étudié. Les composés sélectionnés sont le 3-sulfanylhéxanol, la massoïa lactone et le nonanal. Les concentrations ajoutées dans les mélanges sont celles qui étaient dosées dans un vin typé (Vin 1) et dans un vin non typé (Vin 2). Ainsi, deux différents types des mélanges à partir de composés ont été préparés. Il s'agit du mélange VT et du mélange VNT dont la composition est expliquée dans le **Tableau 32**.

Tableau 32 : Concentrations ajoutées des composées impliquées en µg/L lors de réalisation de différents tests sensoriels

Mélange	Composés						
	3-méthyl-4-octanolide	Eugénol	γ-nonalactone	2-nonen-4-olide	3SH	Massoia lactone	Nonanal
VT	711	35,8	16,3	12,8	2,4	4	1,7
VNT	2,4	1,3	10,1	2,3			

Notons que pour les ajouts du 3-sulfanylhexanol, de la massoia lactone, les concentrations dosées dans le vin typé (Vin 1) ont été utilisées. Concernant le nonanal, la concentration citée par Culléré *et al.* (2011) a été utilisée. Ensuite à partir des concentrations utilisées un histogramme a été construit pour estimer la proportion de chaque composé dans le mélange (Figure 32).

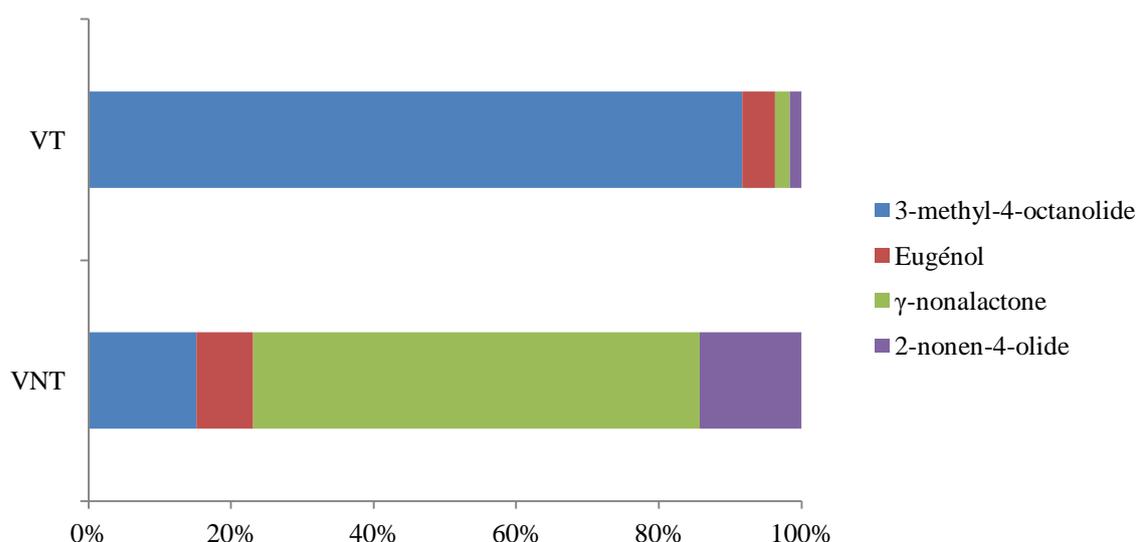


Figure 32 : Pourcentage d'utilisation de chaque composé sur le mélange typé (VT) et non typé (VNT)

Ainsi, dans le cas du mélange VT le pourcentage d'utilisation du 3-méthyl-4-octanolide a été considéré à environ 90% alors que pour le mélange VNT le composé dominant est la γ-nonalactone avec d'environ 60%. A partir des ces résultats l'importance de pourcentage de chaque composé sur le mélanges a été élaboré.

7.3.1 Expériences de reconstitution et d'omission de l'arôme d'orange confite.

7.3.1.1 Etude préliminaire (ajout des composés seuls)

Les premières expériences sensorielles concernent l'ajout des composés seuls dans la solution modèle afin d'évaluer leur impact dans l'arôme d'orange confite. Ainsi, dans cette session sensorielle à part des échantillons de composés seuls, le mélange typé et non typé seront intégrés.

Notre première considération pendant ces expérimentations a été de confirmer l'existence d'un consensus entre les dégustateurs en utilisant une approche par analyse en composante principale (ACP). D'après la méthodologie proposée par Ballester (2004), les experts représentent les variables, et les vins, les individus. L'ACP conduit à la construction graphique d'un plan formé par les deux premiers axes qui explique environ 75% de la variation totale. Comme le montre la **Figure 33**, les experts sont presque tous placés sur l'axe positif de l'axe 1. D'ailleurs, à lui seul l'axe 1 représente 52% de la variance totale. Ces résultats montrent qu'il existe une cohérence entre les sujets et la variabilité interindividuelle apparaît sur l'axe 2.

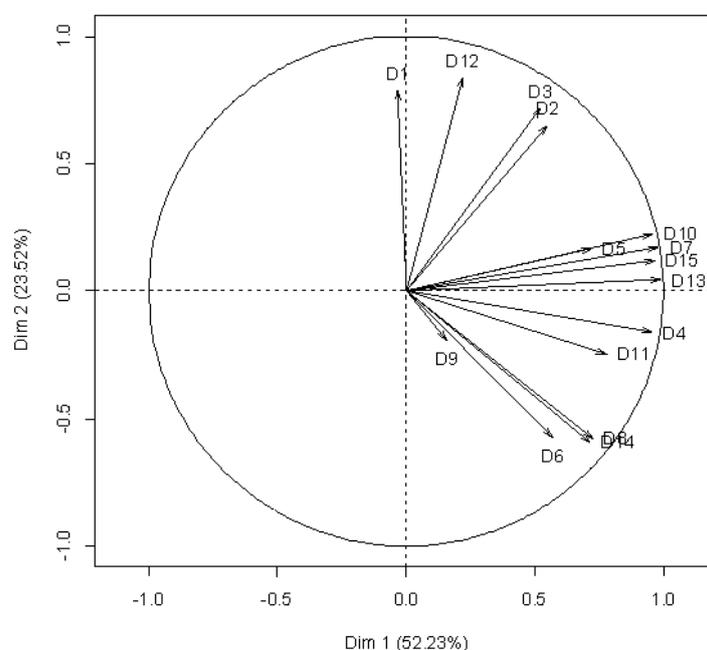


Figure 33 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale

Ensuite, les notes moyennes ont été déterminées pour chaque échantillon. A partir des résultats obtenus (**Figure 34**), l'échantillon du mélange typé (VT) présente la valeur la plus élevée qui est aussi significativement différente de celle des autres échantillons. Les résultats confirment le fait que les composés seuls n'évoquent pas l'arôme d'orange confite.

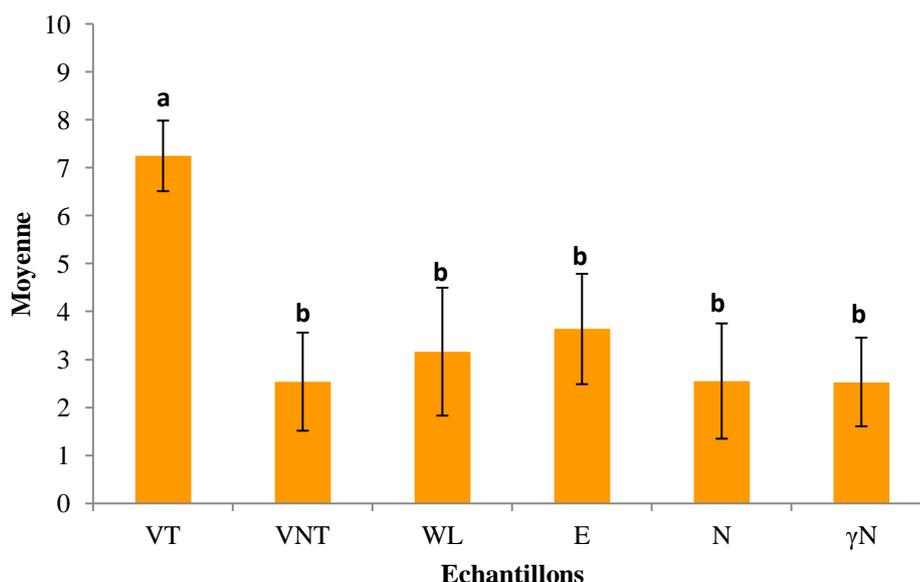


Figure 34 : Intensité moyenne de l'odeur d'orange confite à partir des composés purs

7.3.1.2 Cas de reconstitution en considérant les concentrations d'un vin typé, mélange VT

Comme précédemment décrit, la vérification du consensus entre dégustateurs a été effectuée par la construction d'une ACP. Les experts sont presque tous placés sur l'axe positif de l'axe 1 (**Figure 35**). Dans cette session d'analyse sensorielle, l'ACP construite explique environ 69,8% de la variation totale. D'ailleurs, à lui seul l'axe 1 représente 46% de la variance totale. Ces résultats montrent qu'il existe une cohérence entre les sujets et la variabilité interindividuelle apparaît sur l'axe 2.

L'évaluation étant réalisée par un panel des experts, l'existence d'un consensus entre les juges compense la dispersion due à l'utilisation variable de l'échelle. Comme cette condition est satisfaite, il est possible de calculer la moyenne des notes attribuées pour chaque

échantillon, par les quinze sujets, et de la considérer comme le niveau de représentativité de l'échantillon.

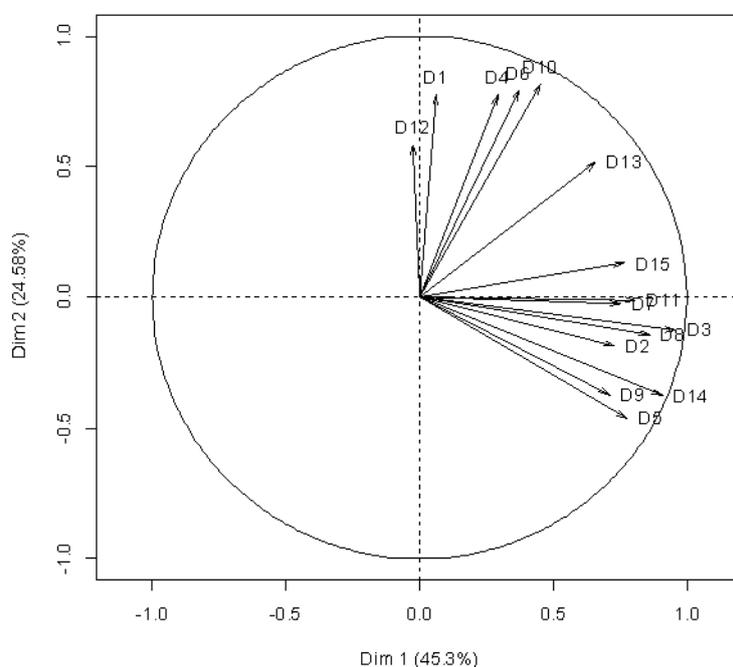


Figure 35 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse des Composante Principale (session mélange typé, VT)

Après la vérification du consensus entre les sujets, les notes moyennes pour l'arôme d'orange confite ont été calculés. Lors de la première session d'analyse sensorielle, différents échantillons avec de compositions différentes ont été présentés. Des reconstitutions à partir des concentrations de vin typé (échantillon VT) et de vin non typé (échantillon VNT) ont été préparées. De plus, l'omission de chacun des composés associés sur la reconstitution du mélange du vin typé a été étudiée.

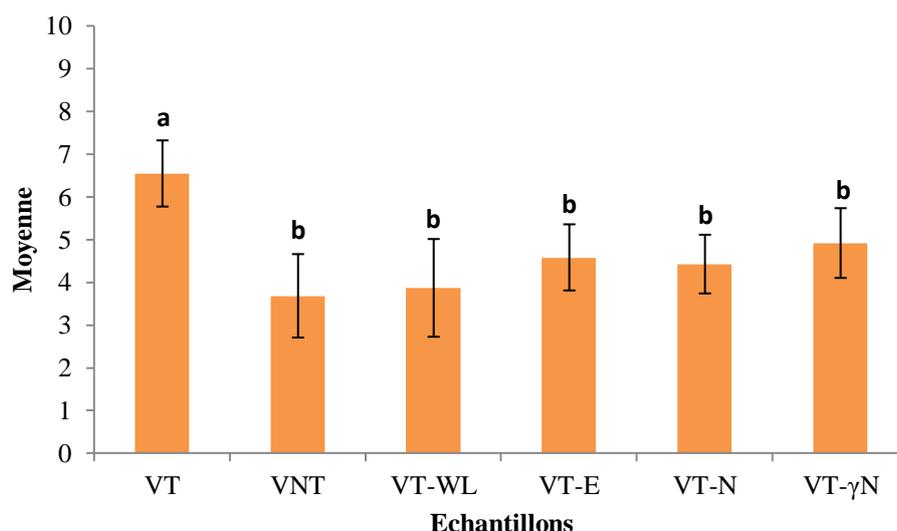


Figure 36 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des composés purs (cas du mélange typé)

Une intensité moyenne de 6,5 est notée pour l'échantillon VT (**Figure 36**). Les concentrations et les proportions de composés ajoutés semblent ainsi donner un mélange typique de l'arôme d'orange confite. Ensuite, concernant les résultats des autres échantillons, des différences marquantes concernant la perception de l'arôme d'orange confite sont constatées. Ainsi, le mélange du vin non typé (VNT) présente une moyenne de 3,6 bien inférieure à celle du mélange typé (VT). Les échantillons avec l'omission des composés présentent des moyennes aussi faibles de 3,8, 4,5, 4,4, et 4,9 concernant respectivement l'omission de 3-méthyl-4-octanolide (VT-WL), d'eugénol (VT-E), de 2-nonen-4-olide (VT-N) et de γ -nonalactone (VT- γ N). Le traitement statistique des résultats montre des différences significatives entre l'échantillon VT et le reste d'échantillons qui forment un groupe homogène (b). A partir l'interprétation statistique, l'importance de chaque composé dans les tonalités aromatique du mélange VT évoquant l'odeur d'orange est ainsi souligné. L'omission de chaque composé modifie de manière significative la perception d'intensité de l'arôme d'orange confite.

7.3.1.3 Cas de reconstitution aromatique en considérant les concentrations d'un vin non typé (mélange VNT)

Comme précédemment décrit, notre première considération concerne l'appréciation d'un consensus entre les dégustateurs. Dans cette session d'analyse sensorielle l'ACP construite explique environ 66% de la variation totale (**Figure 37**). L'axe 1 ne représente plus que 39% de la variance totale ce qui signifie une moindre cohérence au sein du panel par rapport à l'expérience précédente (46%).

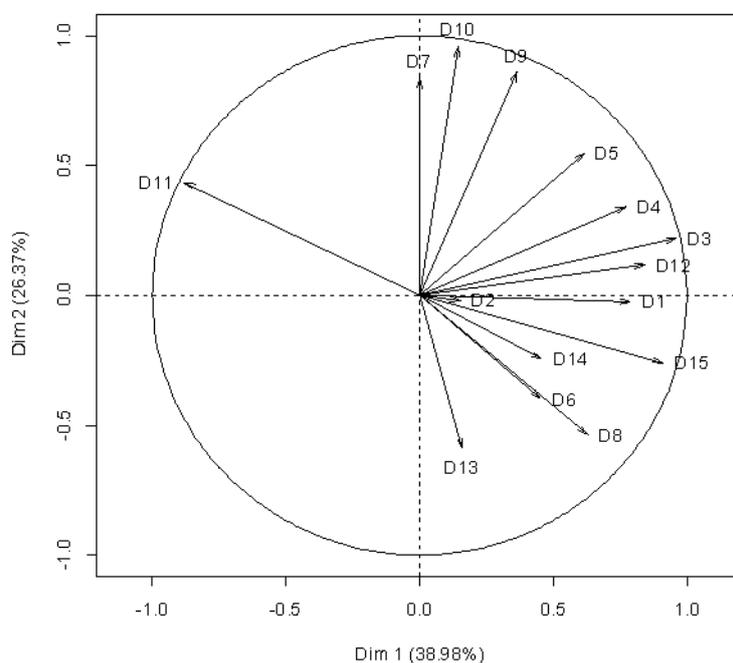


Figure 37 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (session mélange VNT)

Comme le montre la **Figure 37**, la plupart des sujets sont placés sur l'axe positif de l'ACP sauf le sujet numéro 11 qui ne possède pas une même perception par rapport au groupe de l'arôme d'orange confite. Néanmoins, le consensus entre les dégustateurs est vérifié statistiquement.

Après, la vérification de consensus entre les dégustateurs, la comparaison des moyennes perçues d'arôme d'orange confite a été effectuée. Dans cette expérience, à part les échantillons de mélange VT et VNT, des ajouts de composés à des concentrations de la modalité VNT dans le mélange VT ont été effectuées. Plus précisément, la concentration de

3-méthyl-4-octanolide utilisée dans le mélange VNT a été ajoutée dans le mélange d'eugénol, de 2-nonen-4-olide et de γ -nonalactone considérées pour la modalité VT (échantillon VT+WLNT). Enfin, tous des mélanges ont été effectués de telle manière que chaque échantillon puisse posséder le niveau concentration pour chaque composé qui est celui dosé dans la modalité VNT (échantillons VT+ENT respectivement eugénol ajouté au niveau de concentration de la modalité VNT, idem pour le 2-nonen-4-olide et la γ -nonalactone, respectivement modalités VT+NNT, VT+ γ NNT).

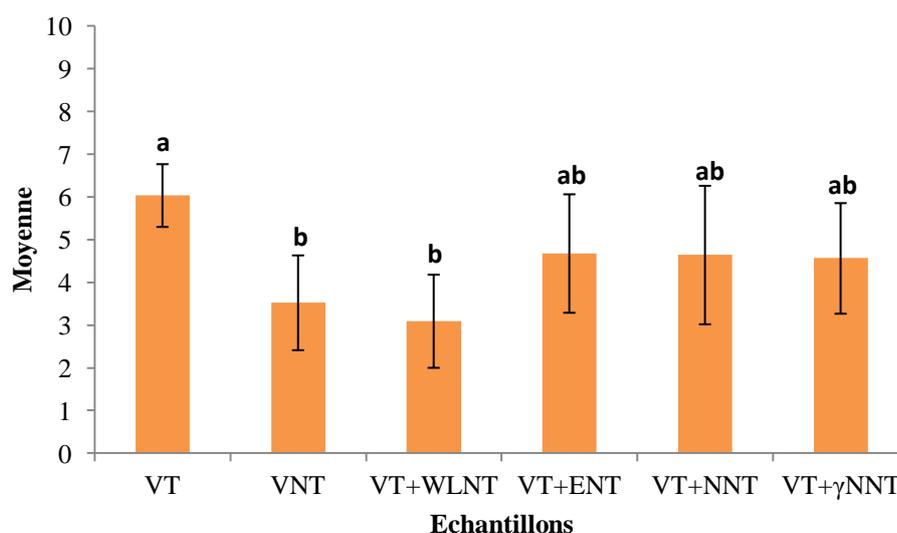


Figure 38 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des composés purs (cas du mélange non typé)

Les intensités moyennes d'arôme d'orange confite ont été mesurées dans le mélange VT toujours au même niveau d'intensité de 6,0 alors que le mélange (VNT) présente une moyenne de 3,5. Ensuite, l'échantillon avec l'ajout du 3-méthyl-4-octanolide (VT+WLNT) présente une moyenne de 3,1 alors que les échantillons VT+ENT, VT+NNT, VT+ γ NNT présentent des valeurs presque similaires avec une moyenne de 4,5.

Le traitement statistique de valeurs d'intensité moyenne montre une différence significative entre l'échantillon VT et les échantillons VNT et VT+WLNT (**Figure 38**). Ces résultats confirment bien sur la reconnaissance des tonalités orangées associées au mélange VT mais, avec ces expériences, l'importance du composé 3-méthyl-4-octanolide dans le comportement du mélange est aussi soulignée. L'omission d'abord (modalité VNT) et ensuite

l'ajout de ce composé en petites concentrations (VT+ WLVNT) comme celles retrouvées dans le vin non typé, modifient de manière significative l'intensité de l'arôme d'orange confite.

Cependant, avec l'eugénoï, le 2-nonen-4-olide et la γ -nonalactone considérés à des niveaux de concentration plus faible (concentration du mélange VNT) par rapport à celle du mélange VT ne présente pas un impact significatif, seulement une tendance. Il semble que pour ces composés la perception de l'expression de note d'orange confite en solution simple, dépende plus de la présence des composés (par rapport à l'absence) que leur niveau de concentration.

7.3.2 Etude sur la contribution de différents marqueurs moléculaires à la perception de l'accord aromatique rappelant l'orange confite

7.3.2.1 Etude du 3-Sulfanylhéxanol (3SH)

Le 3-sulfanylhéxanol composé majeur de l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble, et associé aux notes zestées a été mis en évidence dans les aromagrammes des fractions 37 et 38 (chapitre 4). Aussi, compte tenu de son impact sensoriel, l'incidence d'un ajout de 3SH dans différentes reconstitutions a été étudiée.

D'abord le consensus entre dégustateurs a été vérifié par la construction d'une ACP, qui explique cette fois-ci une variation d'environ 62% (**Figure 39**). Sauf deux exceptions dans notre panel (sujets 11 et 14), les sujets sont majoritairement placés sur l'axe positif de l'ACP et ainsi le consensus est vérifié.

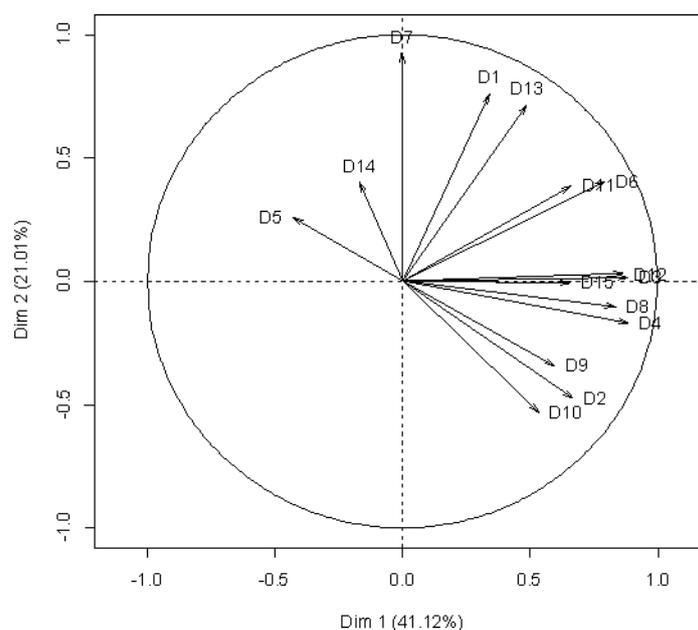


Figure 39 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (effet de 3SH)

Ensuite, le calcul des intensités moyennes d'arôme d'orange confite a été effectué. A partir des résultats obtenus, une ACP a été construite pour vérifier plus visuellement l'impact du 3SH dans l'intensité de la perception de cet arôme. Le traitement statistique par ACP permet de construire un plan dans lequel l'axe 1 correspond à la stricte représentation du niveau de l'intensité d'orange confite. Dans notre cas, en examinant plus précisément la répartition des vins au sein de l'espace de notation (**Figure 40**), nous remarquons que les mélanges avec l'ajout de 3SH sont situés du côté positif de l'axe 1.

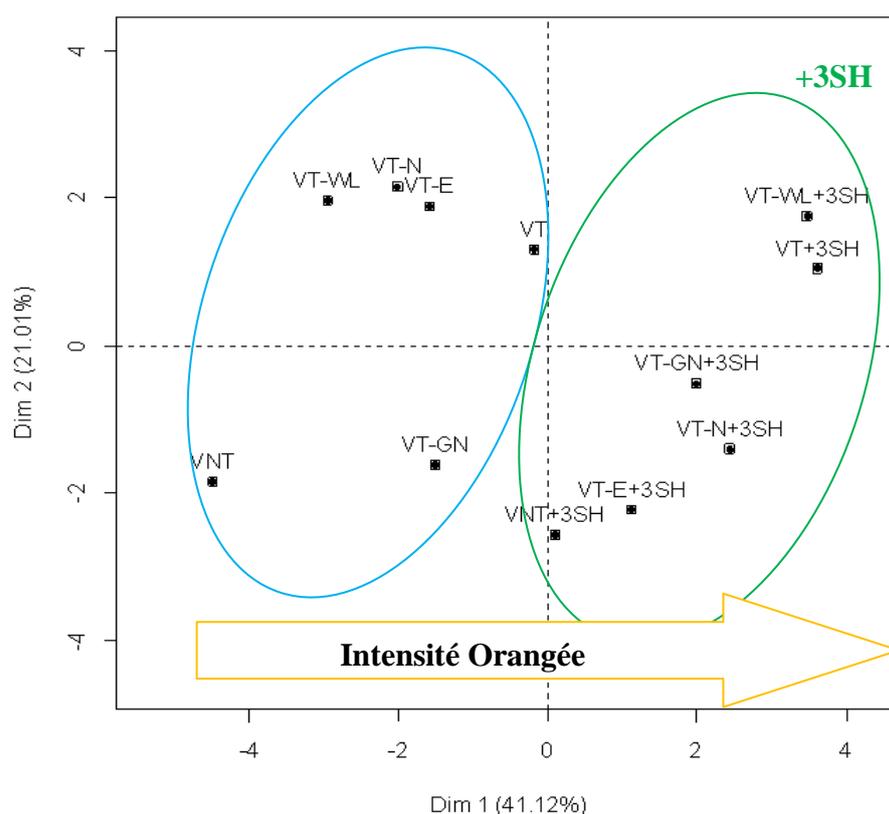


Figure 40 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon leur intensité d'orange confite (effet de 3SH) (WL : whisky lactone, N : 2-nonen-4-olide, GN : γ -nonalactone, E : eugénol)

En observant la répartition des échantillons, nous remarquons qu'il y a un groupement entre les échantillons sans 3SH ajouté et les échantillons avec ajout de 3SH (**Figure 40**). Le traitement statistique par ANOVA des notes données par le panel montre des différences significatives pour une partie des échantillons sinon des tendances pour les autres. Ainsi, des différences significatives ont été observées pour les échantillons du mélange de vin typé (VT), les échantillons avec l'omission de 3-méthyl-4-octanolide (VT-WL) et pour les échantillons de l'omission de γ -nonalactone, pour les autres, des tendances sont observées pour la modalité avec omission de 2-nonen-4-olide, VNT et modalité avec omission d'eugénol (VT-E) (**Figure 41**).

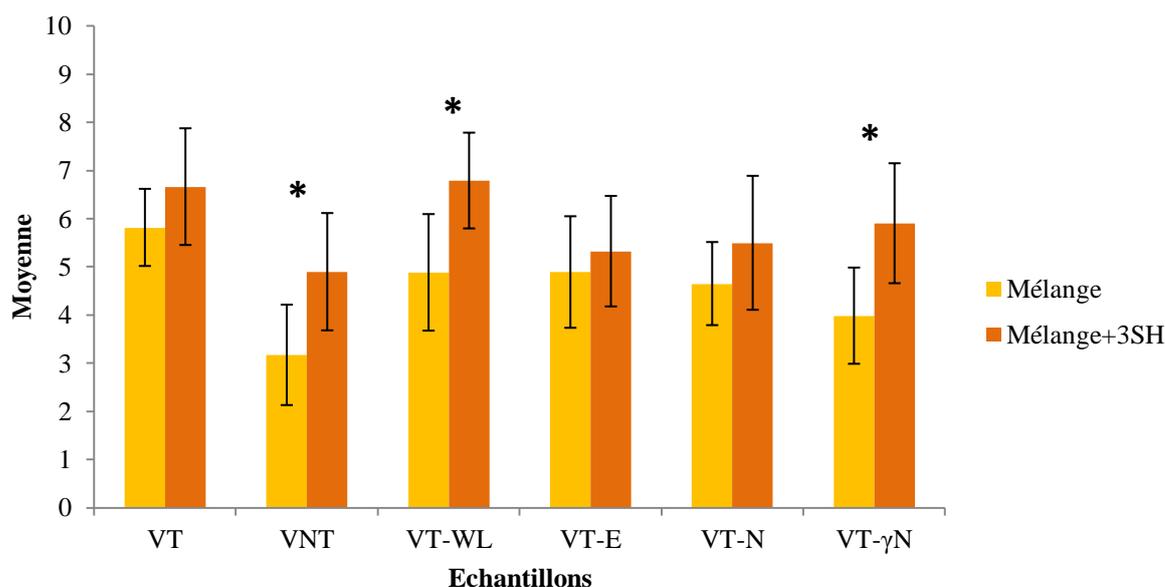


Figure 41 : Intensité moyenne de l'arôme d'orange confite à partir des mélanges de composés purs sans et avec ajout de 3SH ; * : différence significative entre les échantillons ($p \leq 0.05$)

Concernant l'échantillon du mélange VNT, il présente une valeur moyenne de 3,2 alors que le même échantillon avec l'ajout de 3SH (VNT+3SH) présente une valeur de 4,9. Ensuite les échantillons avec l'omission du 3-méthyl-4-octanolide (VT-WL) et omission de la γ -nonalactone (VT- γ N) présentent des valeurs de 4,9 et 4,0. Avec ajout de 3SH, les valeurs sont systématiquement augmentées, en particulier pour les modalités (VT-WL) et (VT- γ N) à des notes de 6,8 et 5,9 respectivement.

Ainsi, l'ajout de 3SH présente un effet d'intensification, soit nettement significatif soit à un niveau de tendance, dans la perception des notes d'orange confite, qui est plus ou moins marqué selon le composé considéré ainsi que selon le niveau de concentration des composés. Ainsi, dans le cas du mélange VT, l'effet de l'ajout de 3SH n'est pas significatif, seulement une tendance, tandis que dans la modalité VNT, l'ajout a changé de manière significative la perception du mélange.

7.3.2.2 Etude de la Massoia Lactone

La massoia lactone (**Figure 42**) tire son nom du bois de la massoia (*Cryptocaria massoia*) dont elle est isolée de l'écorce (Abe, 1937). Ce composé est caractérisé par une odeur de noix de coco et de figue et possède un seuil de perception relativement bas. Son seuil de perception a été calculé à 18 µg/L en solution modèle puis ce composé a été quantifié pour la première fois dans les vins de pourriture noble et ses concentrations sont plus élevées que les vins blanc secs (Sarrazin, 2007).

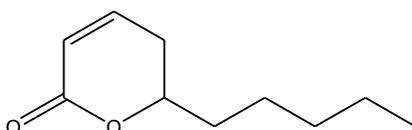


Figure 42 : Structure de la massoia lactone

Comme pour toutes les expériences précédentes, notre première démarche a été de valider le consensus du panel. L'ACP conduit à la construction graphique qui explique environ de 72% de la variation totale (**Figure 43**). L'axe 1 à lui seul représente 53% de la variance totale, et comme tous les sujets sont placés sur le côté positif, la cohérence entre les sujets est ainsi établie.

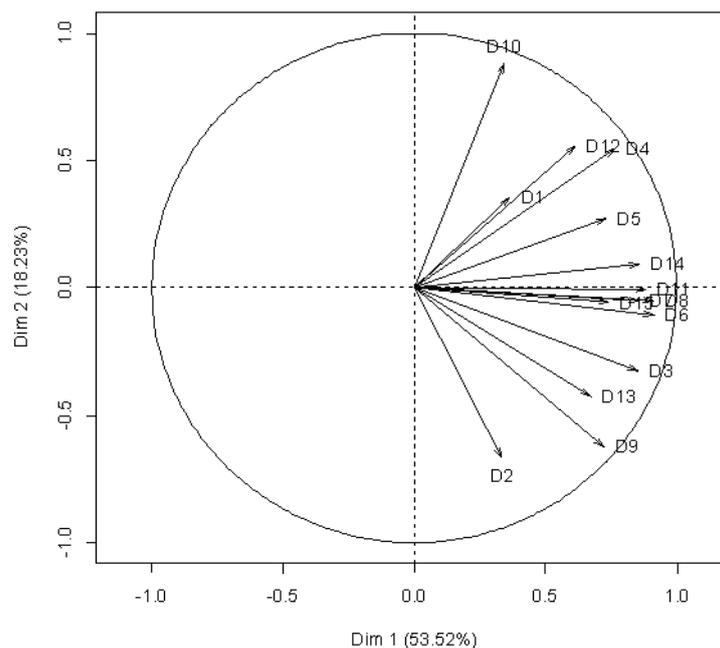


Figure 43 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l’espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (effet de la massoia lactone)

Ensuite, le traitement statistique par ACP a permis de construire un plan dans lequel l’axe 1 correspond à la stricte représentation du niveau d’intensité de l’arôme d’orange confite. Dans le cas de l’ajout de la massoia lactone, en observant la répartition des échantillons, nous remarquons toutefois qu’il n’y a pas une réelle séparation entre les mélanges avec l’ajout de la massoia lactone et les autres échantillons (**Figure 44**). Les différents échantillons sont repartis tout au long de l’axe 1 illustrant la présence des échantillons mieux notés pour l’arôme d’orange confite.

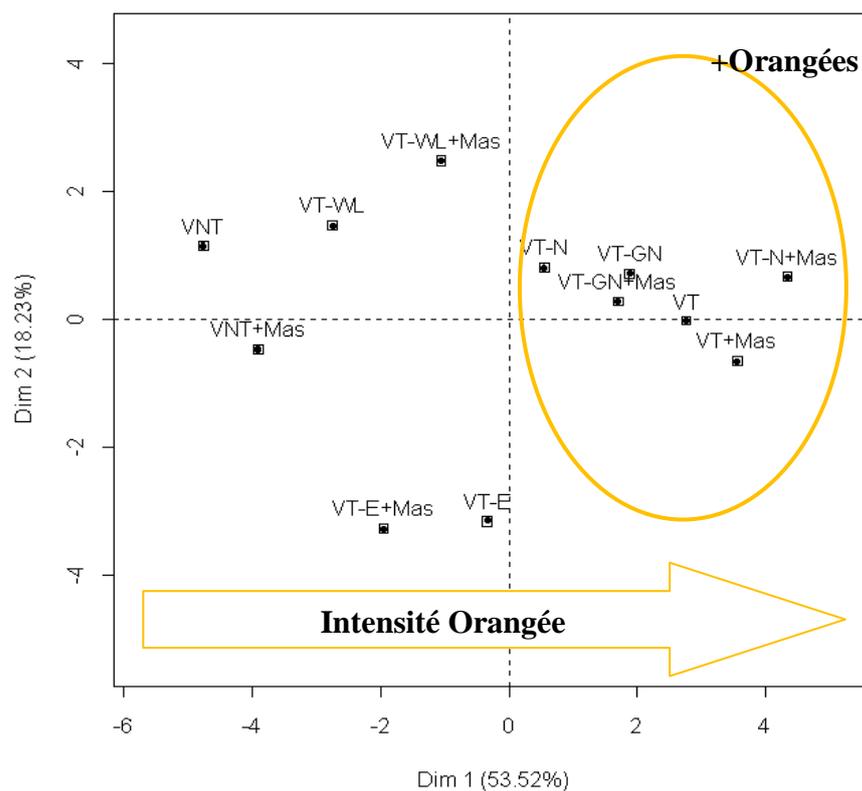


Figure 44 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon leur intensité d'orange confite (effet de la massoia lactone) (WL : whisky lactone, N : 2-nonen-4-olide, GN : γ -nonalactone, E : eugénol)

Enfin les calculs de moyenne intensité de l'arôme d'orange confite, ont été effectués (**Figure 45**). Le traitement statistique des échantillons par paire n'a pas montré des différences significatives sauf dans le cas de l'omission du 2-nonen-4-olide.

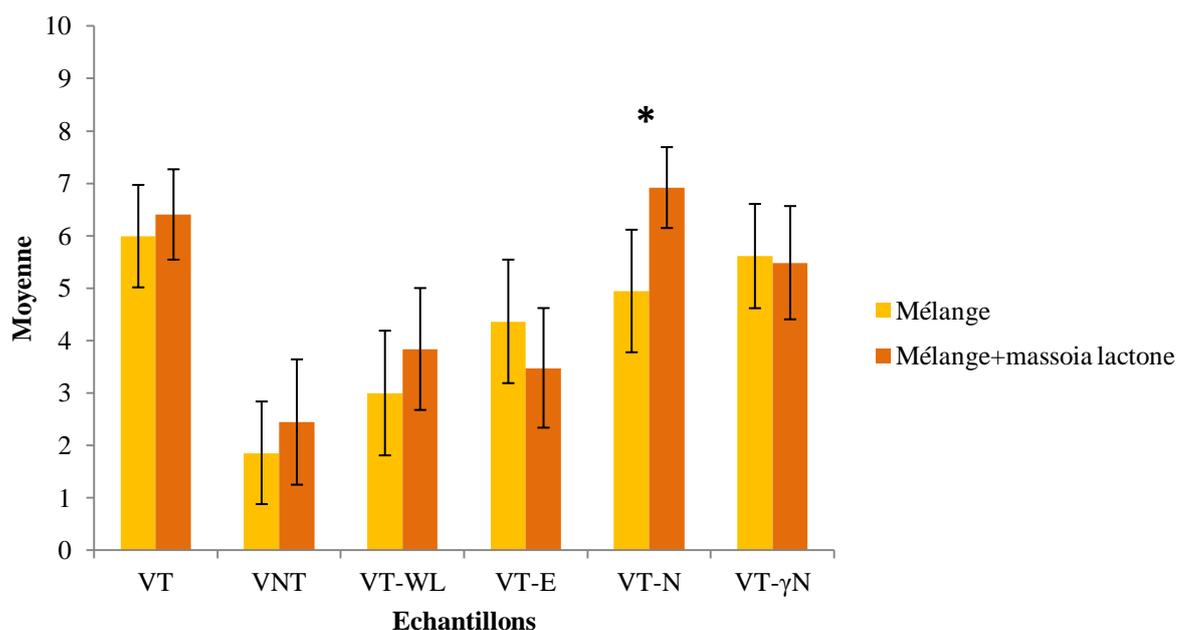


Figure 45 : Intensité moyenne de l’arôme d’orange confite à partir des mélanges de composés purs sans et avec l’ajout de la massoia lactone ; * : différence significative entre les échantillons ($p \leq 0.05$)

L’échantillon avec l’omission du 2-nonen-4-olide présente, dans ces conditions une valeur moyenne de 4,9. Au contraire, le même échantillon avec l’ajout de la massoia lactone présente une valeur moyenne de 6,9. Il semble que la massoia lactone présente le même comportement sur le mélange que le 2-nonen-4-olide mais cet effet n’est pas aussi prononcé dans le mélange avec l’ensemble des composés (VT) ou avec les autres modalités. La proximité moléculaire entre le 2-nonen-4-olide et la massoia lactone (insaturation sur l’hétérocycle) est peut être en lien avec l’effet sensoriel.

Cependant, en comparant l’ensemble des valeurs moyennes, il n’y a pas de différences significatives entre les modalités avec ajout ou pas de massoia lactone. Malgré cette observation générale, un échantillon comme le mélange (VT- γ N) avec omission de γ -nonalactone présente une valeur moyenne élevée de 5,6 sans ajout de la massoia lactone et 5,4 avec ajout. Globalement ce composé, pourtant considéré comme une lactone spécifique des vins issus de raisins botrytisés (chapitre 8) ne semble pas avoir d’effet significatif dans la perception de l’arôme d’orange confite.

7.3.2.3 Etude du Nonanal

Le nonanal (**Figure 46**) a été souvent identifié par CPG-O comme odorant potentiel actif dans le vin (Guth, 1997 ; Culléré *et al.*, 2004 ; Culléré *et al.*, 2008). Son dosage a aussi été effectué dans les vins (de Revel *et al.*, 1997 ; Ferreira *et al.*, 2004 ; Culléré *et al.*, 2011). Le seuil de perception du nonanal est à 2,5µg/L dans une solution modèle. Le nonanal étant décrit comme présentant des notes d'agrumes, l'étude de son comportement dans le mélange évoquant l'orange confite semble intéressant à considérer.



Figure 46 : Structure du Nonanal

La première considération a été de confirmer l'existence d'un consensus entre les dégustateurs et donc une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée (**Figure 47**). La construction de l'ACP reflète une explication de variables à environ 65%.

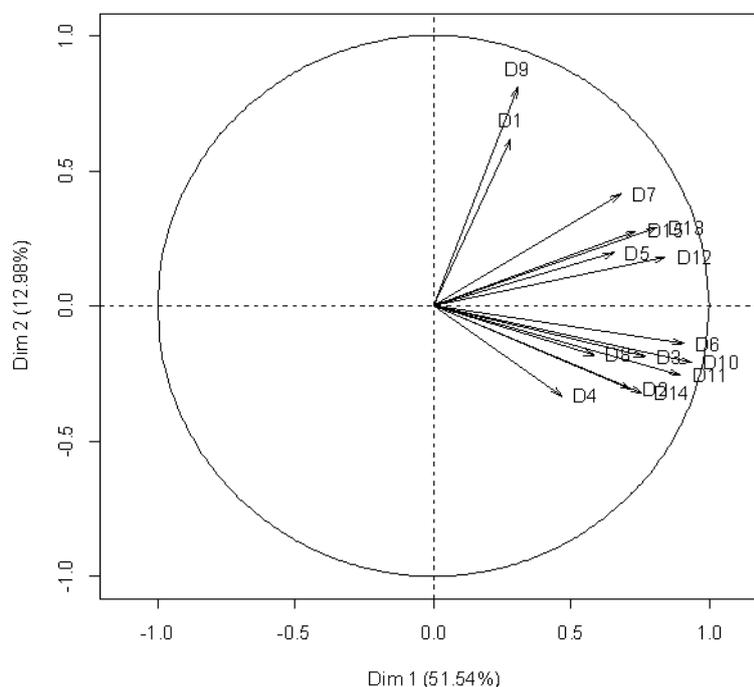


Figure 47 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (effet du Nonanal)

Les variables (sujets) étant positionnés sur le côté positif de l'axe 1, la cohérence entre les dégustateurs est établie. Puis, le traitement statistique permet la construction d'une ACP qui correspond à la représentation du niveau d'intensité de l'arôme d'orange confite.

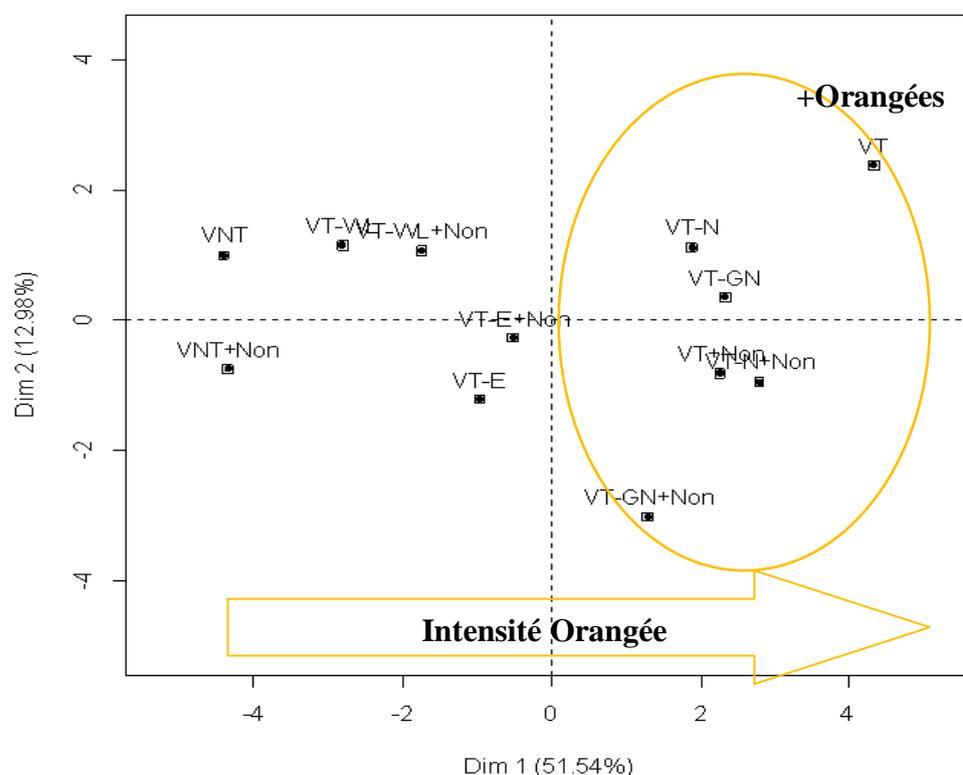


Figure 48 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon leur intensité d'orange confite (effet du Nonanal) (Non : Nonanal, WL : whisky lactone, N : 2-nonen-4-olide, GN : γ -nonalactone, E : eugénol)

En observant la répartition des échantillons, comme précédemment dans le cas de la massoia lactone, il n'y a pas une séparation distincte entre les échantillons du mélange avec ou sans ajout de nonanal (**Figure 48**). Le traitement statistique des échantillons par paires ne montre aucune différence significative entre les échantillons (**Figure 49**). Ainsi l'ajout de nonanal dans les mélanges n'a aucun impact significatif sur la perception de l'arôme d'orange confite. D'ailleurs, des effets additifs entre les aldéhydes ont été rapportés (Escudero *et al.*, 2007 ; Culleré *et al.*, 2011). Peut-être l'impact du nonanal est limité du fait qu'il n'existe pas d'autres aldéhydes dans le mélange.

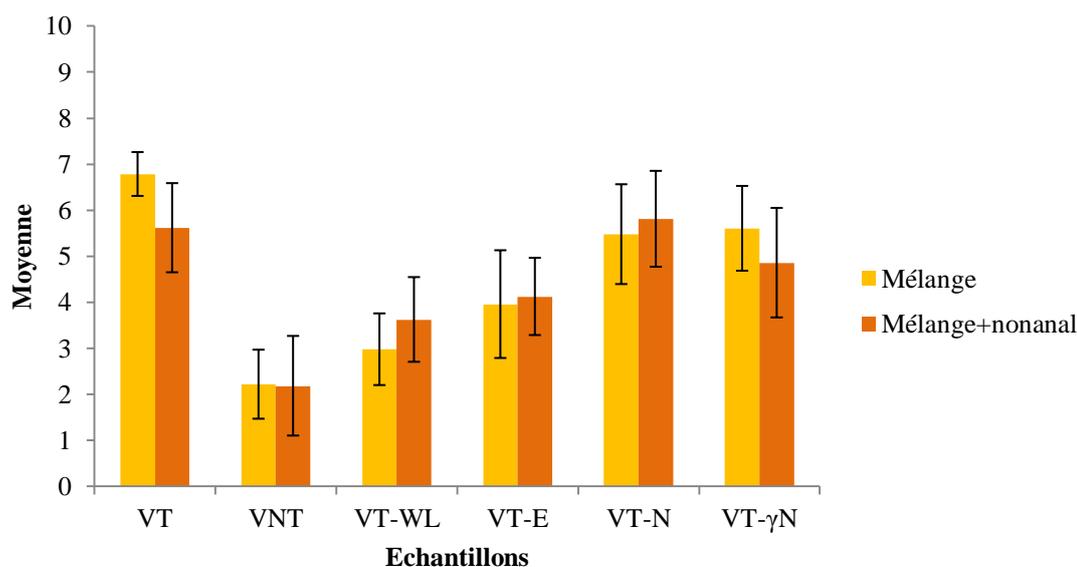


Figure 49 : Intensité moyenne de l’arôme d’orange confite à partir des mélanges de composés purs sans et avec l’ajout de nonanal

7.3.3 Etude concernant l’appréciation du niveau de typicité dans le cas des mélanges

L’appréciation du niveau de la proximité olfactive des mélanges de produits purs avec le niveau de typicité, c’est à dire la proximité sensorielle avec les notes de fruits confits des vins liquoreux de pourriture noble, a été étudiée dans le cadre de diverses séances d’analyses sensorielles.

Initialement, afin d’analyser le niveau de consensus entre les sujets, une ACP est réalisée. L’ACP conduit à la construction graphique d’un plan formé par les deux premiers axes qui explique environ 50% de la variation totale. Comme le montre la **Figure 50**, les sujets du panel sont tous placés sur la côté positif de l’axe 1. Ces résultats montrent la cohérence entre les sujets sur leur notation par rapport au niveau de typicité.

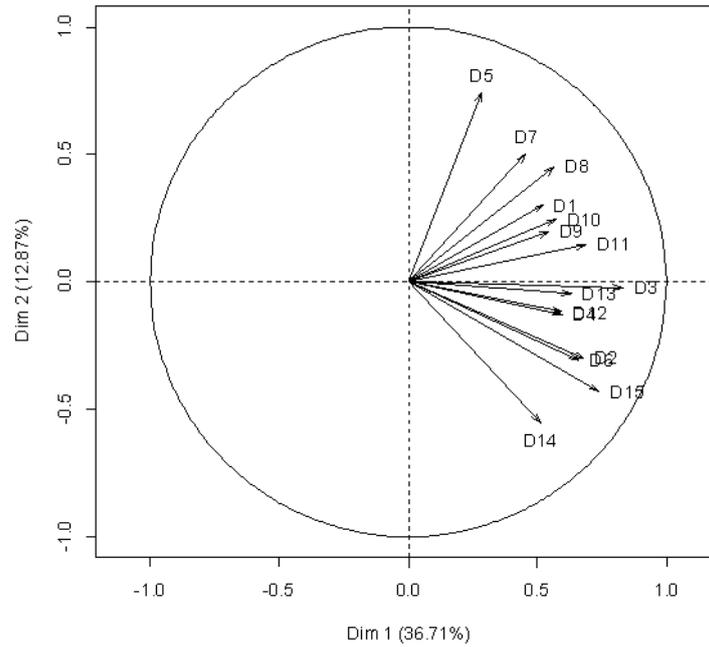


Figure 50 : Représentation graphique des variables (juges) au sein de l'espace de notation construit par Analyse en Composante Principale (niveau de la Typicité)

Ensuite le traitement statistique par ACP permet aussi de construire un plan dans lequel l'axe 1 correspond à la stricte représentation du niveau de la typicité sensorielle des mélanges. En observant la répartition des échantillons (**Figure 51**), nous remarquons qu'il n'y a pas une réelle séparation entre les échantillons par rapport à leur niveau de la typicité.

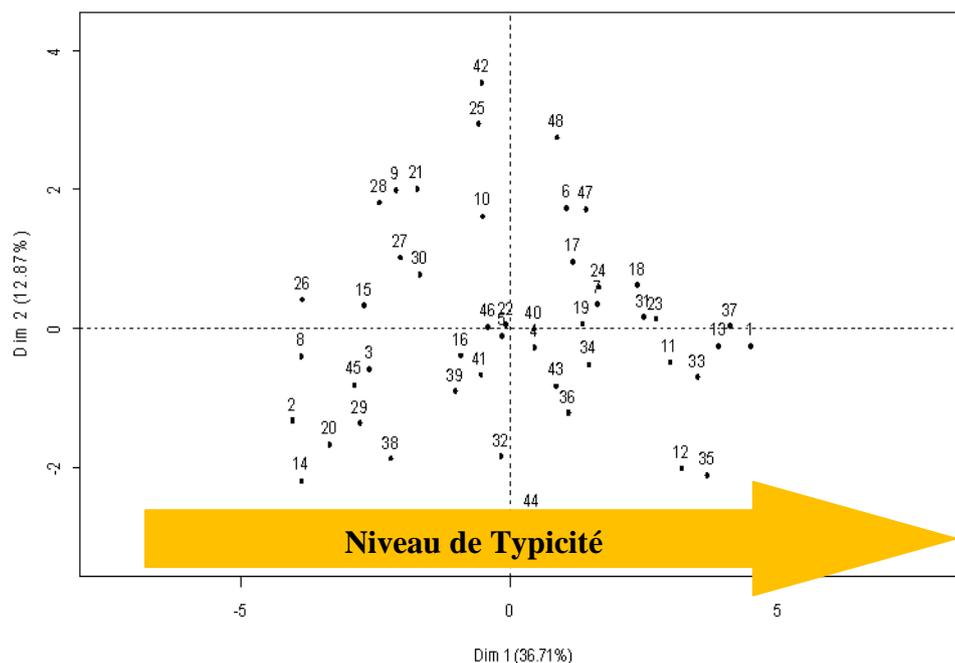


Figure 51 : Analyse en Composante Principale. Représentation des échantillons (individus) selon niveau de typicité

Les échantillons sont repartis tout au long de l'axe 1 illustrant la présence de bons exemples comme de moins bons exemples. Du fait de l'existence d'un gradient de typicité entre les échantillons, la corrélation entre les échantillons par rapport à notes d'intensité d'arôme d'orange confite a été étudiée. Ainsi, pour ce traitement statistique, les notes des différentes séances sensorielles présentées précédemment ont été considérées. Ensuite, un test de corrélation de Spearman et une courbe de corrélation ont été effectués.

Les résultats révèlent une corrélation significative ($p < 0.01$) entre les intensités moyennes d'arôme d'orange confite et le niveau de typicité des échantillons. La courbe de corrélation présente un coefficient de corrélation R^2 présentant une valeur de 0,8197 (**Figure 52**).

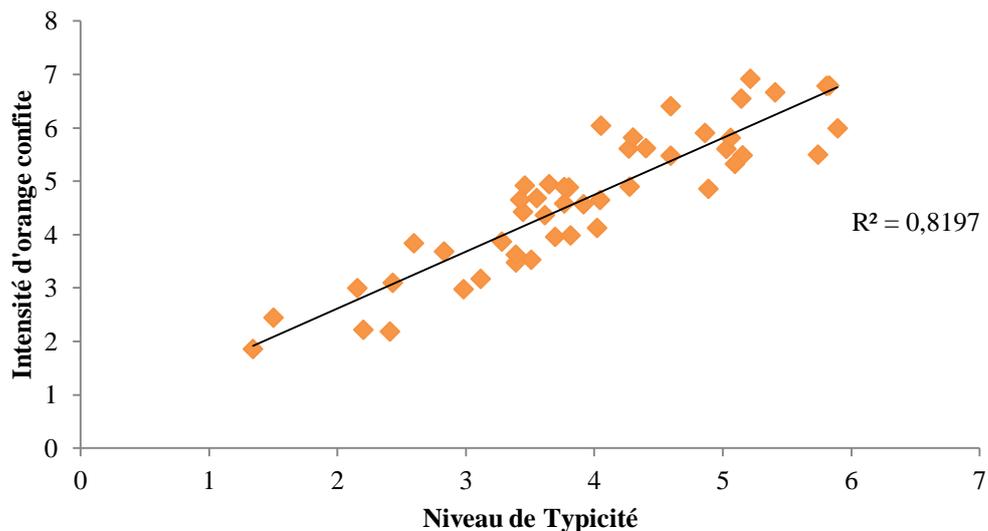


Figure 52 : Corrélation entre l'intensité de l'arôme d'orange confite et le niveau de typicité des mélanges

Ces résultats permettent de souligner d'abord l'importance de ces composés sur la perception de l'arôme d'orange confite et ensuite sur le niveau de la typicité.

7.4 DISCUSSION-CONCLUSION

Les résultats obtenus lors de différentes séances sensorielles ont montré l'importance de quelques composés, dans la perception de l'arôme d'orange confite au travers un phénomène bien connu en parfumerie et décrit pour la première fois en œnologie, l'accord aromatique. Ainsi, des composés associés à la fois au bois de chêne (3-méthyl-4-octanolide, eugénol) et à la botrytisation (2-nonen-4-olide, γ -nonalactone) permettent de contribuer à une nuance aromatique spécifique des grands vins liquoreux de pourriture noble dans le cadre d'un phénomène d'interactions perceptives. Le mélange n'est pas considéré par les panelistes comme une perception analytique, associée à la reconnaissance des différents descripteurs olfactifs des composés mais une perception synthétique. Cette démonstration a pu être menée à partir d'expériences de reconstitution sensorielle et des tests d'omission, avec des fractions d'extraits de vins et confirmé en solution simple. En outre, l'accord aromatique mis en

évidence a aussi des répercussions dans l'appréciation du niveau de typicité des vins liquoreux de pourriture noble.

Plusieurs études relatent l'impact des composants clés et de leur concentration dans la formation d'une configuration aromatique (Lalsa *et al.*, 1993 ; Bult *et al.*, 2002 ; Reinhard *et al.*, 2010). Par exemple Bult *et al.*, (2002) ont trouvé que 2 odorants, l'acétate d'hexyle (odeur fruitée) et le trans-2-hexenal (odeur de végétal), ont un poids important dans la formation d'une note de « pomme ». Sinding *et al.* (2013) a démontré la contribution de cinq composés [vanilline (vanille), β -damascénone (compote de pomme), frambinone (framboise), acétate d'isoamyle (banane), β -ionone (violette), acétate d'éthyle (solvant)] à l'odeur de sirop de grenadine. Par ailleurs, l'isobutyrate d'éthyle (A) et l'éthyl maltol (2-éthyl-3-hydroxy-4(4H)-pyranone) (B) peuvent développer une odeur d'ananas en mélange alors que le composé A rappelle une odeur fruitée et le composé B une odeur de caramel (Le Berre *et al.*, 2008).

Dans ces études un autre facteur semblant influencer la discrimination, la généralisation et la reconnaissance du mélange, est la proportion quantitative des composants. Il a été montré, dans un mélange binaire AB (« ananas »), que l'accord odorant est cassé, c'est à dire qu'il y a une perception analytique, lorsque la concentration de l'odorant B est modifiée (même d'une variation à peine détectable perceptivement) (Le Berre *et al.*, 2008). Dans notre cas, des différences sensorielles liées à la proportion de chaque constituant, ont été observées en solution simple. Ainsi, la contribution importante des lactones en mélange à l'odeur d'orange confite, est restreinte lorsque le niveau de concentration d'un des composés est plus faible. Ces phénomènes doivent avoir une incidence dans l'arôme des vins pour renforcer une perception analytique ou favoriser un accord aromatique associé à une perception synthétique mais nous ne pouvons qu'en formuler l'hypothèse. D'autres composés aussi peuvent contribuer à renforcer l'expression aromatique d'orange confite tel le 3-sulfanylhéxanol, rappelant l'odeur du pamplemousse qui a un effet exhausteur de l'intensité de la perception d'arôme d'orange confite. Cette observation conforte les études de Sarrazin (2007), Sarrazin *et al.* (2007b) qui avait établi le rôle de ce composé dans la valorisation de l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble. La massoïa lactone et le nonanal ne semblent pas posséder le même impact que le 3SH même si des phénomènes d'interactions perceptives ont été observés avec ces composés.

Enfin, l'importance de l'arôme d'orange confite dans l'appréciation de la typicité des vins liquoreux de pourriture noble a été mise en évidence. La corrélation significative entre

l'arôme d'orange confite et la typicité montre le rôle de cette nuance aromatique particulière dans les vins. Ce point est approfondi dans le chapitre suivant concernant la corrélation entre composés volatils et l'expression typique de l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble.

**8 CORRELATION ENTRE COMPOSANTS CLES DE
L'AROME DES VINS LIQUOREUX DE POURRITURE
NOBLE ET APPRECIATION SENSORIELLE**

8.1 ANALYSE QUANTITATIVE DES COMPOSES AROMATIQUES CLES DES VINS DE POURRITURE NOBLE ET APPRECIATION SENSORIELLE

8.1.1 Introduction

La caractérisation des marqueurs moléculaires associés à la qualité aromatique des vins liquoreux de pourriture noble inclut nécessairement la confrontation de leur impact sensoriel à la mesure de leur niveau d'abondance quantitative dans les vins.

Des travaux précédents menés sur l'arôme des vins liquoreux ont ainsi conduit à établir de bonnes corrélations entre les concentrations de composés rappelant ou pas des tonalités aromatiques caractéristiques avec l'appréciation de typicité des vins. Il s'agit de thiols volatils rappelant des nuances d'agrumes (3-sulfanylhéxan-1-ol, 3-sulfanylpentan-1-ol, 3-sulfanylheptan-1-ol ; Sarrazin *et al.*, 2007b), de la γ -nonalactone et paradoxalement des *cis* et *trans*-3-méthyl-4-octanolide qui évoquent l'odeur de noix de coco. D'autres composés tels que le phénylacétaldéhyde, le méthional, les furanones et le sotolon (Sarrazin 2007, Sarrazin *et al.*, 2008) sont aussi présents dans les vins liquoreux de pourriture noble à des concentrations supérieures au seuil de perception olfactive mais la corrélation entre leur niveau d'abondance dans les vins et l'appréciation de la typicité aromatique n'est pas toujours aussi élevée, en particulier pour le phénylacétaldéhyde et le méthional, soit médiocre pour les furanones (furanéol, homofuranéol) et le sotolon (Sarrazin, 2007).

Dans le chapitre précédent, nous avons montré l'impact sensoriel dans le renforcement des nuances d'agrumes, et particulièrement d'orange confite, de composés tels que l'eugénol, les *cis* et *trans*-3-méthyl-4-octanolides ainsi que le 2-nonen-4-olide, récemment identifié. Dans ce chapitre, les travaux concernent l'étude du rôle des composés volatils cités préalablement vis-à-vis de l'appréciation olfactive de la qualité sensorielle d'un cru de Bordeaux produisant de grands vins liquoreux de pourriture noble et de leur typicité. Le choix des vins est basé sur une sélection de différents millésimes auxquels viennent s'ajouter d'autres vins liquoreux de la région bordelaise, ainsi que des vins non liquoreux extérieurs à Bordeaux. Ainsi, des corrélations sont étudiées entre les concentrations de ces composés dans les vins et le jugement olfactif.

8.1.2 Analyse des Lactones

L'impact majeur de lactones telles que le 2-nonen-4-olide, la γ -nonalactone, les cis et trans 3-méthyl-4-octanolide a déjà été montré dans le précédent chapitre. Ainsi, il a paru intéressant de mener une étude plus précise en considérant l'analyse d'autres lactones dans des vins de différents millésimes.

Concrètement, nous travaillerons uniquement sur les lactones à longue chaîne aliphatique car ce sont les lactones dont l'impact olfactif est susceptible d'être le plus important. Notre étude portera plus particulièrement sur la γ -octalactone, la γ -nonalactone, la γ -décalactone, la δ -décalactone, la massoia lactone ainsi que le 2-nonen-4-olide. Concernant les composés du bois, les isomères du 3-méthyl-4-octanolide ainsi que l'eugénol sont étudiés.

8.1.2.1 Protocole expérimental

Les lactones aliphatiques sont des composés bien connus de l'arôme des vins. Cependant, elles sont caractérisées par des ions peu spécifiques, ce qui les rend difficiles à détecter dans des extraits de vins non purifiés. Ainsi, une méthode de quantification développée par Ferreira *et al.* (2004) puis adaptée par Sarrazin (2007) à l'étude des vins liquoreux a été utilisée. Ce protocole utilise l'absorption sélective des lactones sur la résine Bond Elut ENV (Varian, les Ulis, France). Les détails sur la méthode de quantification des lactones aliphatiques ont déjà été présentés dans le chapitre « matériels et méthodes ».

8.1.2.2 Contribution des lactones associées au développement de *Botrytis cinerea*

Neuf vins liquoreux de Bordeaux de millésimes variés, un vin liquoreux extérieur à Bordeaux ainsi que quatre vins blanc secs issus des vendanges atteintes par la pourriture noble ont été sélectionnés (**Tableau 33**).

Dans les vins liquoreux de pourriture noble, les teneurs en lactones sont toujours plus élevées que celles mesurées dans les vins issus des raisins sains, ceci confirmant les travaux de Sarrazin (2007), Genovese *et al.* (2007), Cooke *et al.* (2009b). En particulier, les teneurs sont plus élevées que dans les vins rouges et les blancs secs (Cooke *et al.*, 2009b). Cependant,

comme cela a été mis en évidence par Sarrazin (2007), les teneurs sont plus faibles dans les vins liquoreux issus des raisins passerillés (Jurançon) que dans les vins liquoreux issus de pourriture noble. Nos travaux concordent avec des travaux réalisés par Muller *et al.* (1973) et Sarrazin, (2007) qui ont montré que la γ -nonalactone était l'une des lactones les plus abondantes du vin (**Figure 53**).

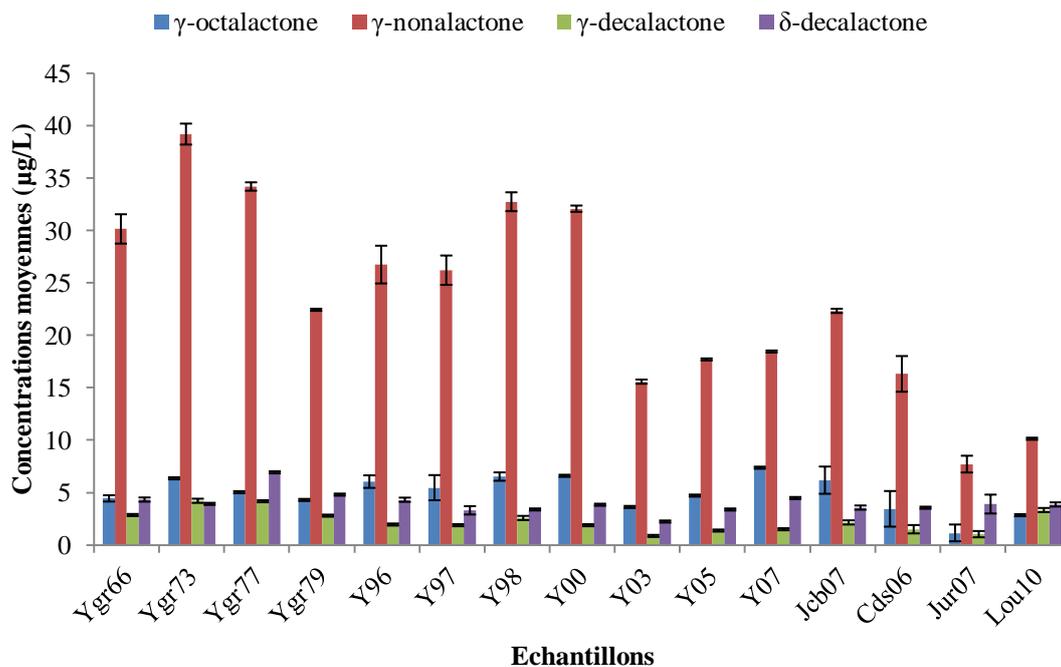


Figure 53 : Concentrations de différentes lactones ($\mu\text{g/L}$) dans des vins blanc secs élaborés à partir de raisins atteints par la pourriture et liquoreux

De plus, pour les millésimes plus anciens (Y96, Y97, Y98, Y00), des concentrations généralement plus élevées en γ -nonalactone sont notées. Des teneurs aussi élevées ne sont pas nécessairement liées à l'âge des vins, Sarrazin *et al.* (2007) et Cooke *et al.* (2009b) n'ayant pas montré des teneurs accrues en γ -nonalactone selon le millésime. Les teneurs élevées pourraient être associées aux modalités d'élevage (utilisation de barriques neuves), ainsi que l'a montré Pons (2006) sur les vins rouges. De surcroît, la deuxième lactone la plus abondante, la γ -octalactone, présente des valeurs relativement importantes dans les vins blanc secs de millésimes anciens.

Tableau 33 : Concentration moyenne en lactones ($\mu\text{g/L}$) dans des vins différents

Vins	Identification	Millésime	Appellation	γ -octalactone	γ -nonalactone	γ -décalactone	δ -décalactone	massoia lactone	2-nonen4-olide
Ygrec	Ygr66	1966	Bordeaux	$4,4 \pm 0,3$	$30,1 \pm 1,4$	$2,8 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,2$	$29,5 \pm 2,0$	$11,3 \pm 1,7$
Ygrec	Ygr73	1973	Bordeaux	$6,3 \pm 0,1$	$39,2 \pm 1,0$	$4,2 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$	$4,1 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,8$
Ygrec	Ygr77	1977	Bordeaux	$5,0 \pm 0,1$	$34,2 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,1$	$7,6 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,9$
Ygrec	Ygr79	1979	Bordeaux	$4,3 \pm 0,1$	$22,4 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$4,8 \pm 0,1$	$5,4 \pm 0,1$	$7,8 \pm 0,7$
Château d'Yquem	Y96	1996	Sauternes	$6,0 \pm 0,6$	$26,7 \pm 1,8$	$1,9 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,1$	$8,0 \pm 0,9$
Château d'Yquem	Y97	1997	Sauternes	$5,4 \pm 1,2$	$26,2 \pm 1,4$	$1,9 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,5$	$11,6 \pm 1,1$
Château d'Yquem	Y98	1998	Sauternes	$6,5 \pm 0,4$	$32,7 \pm 0,9$	$2,6 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,7$	$4,9 \pm 0,2$
Château d'Yquem	Y00	2000	Sauternes	$6,6 \pm 0,1$	$32,1 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,1$	$5,6 \pm 0,5$
Château d'Yquem	Y03	2003	Sauternes	$3,6 \pm 0,1$	$15,6 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$
Château d'Yquem	Y05	2005	Sauternes	$4,7 \pm 0,1$	$17,7 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,2$
Château d'Yquem	Y07	2007	Sauternes	$7,4 \pm 0,1$	$18,4 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,3$	$27,6 \pm 4,2$	$9,0 \pm 1,8$
Château Laville	Jcb07	2007	Sauternes	$6,2 \pm 1,3$	$22,3 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	$11,9 \pm 0,7$	$7,5 \pm 0,2$
Castelnaud de Suduiraut	Cds06	2006	Sauternes	$3,4 \pm 1,7$	$16,3 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$	$4,0 \pm 1,2$	$12,8 \pm 0,4$
Domaine de Cauhapé	Jur07	2007	Jurançon	$1,1 \pm 0,8$	$7,7 \pm 1,0$	$1,0 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,9$	$1,8 \pm 0,3$	$13,2 \pm 0,4$
Domaine de Rouquette	Lou10	2010	Loupiac	$2,8 \pm 0,1$	$10,1 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$
Seuil de perception (solution modèle)				8^a	25^b	100^a	11^a	18^c	$4,3$

^aEngel *et al.*, 1988 ; ^bAppell, 1969 ; ^cSarrazin, 2007

La représentation graphique des concentrations de la massoia lactone et du 2-nonen-4-olide (**Figure 54**) montre aussi des variations importantes entre les vins qui peuvent être liées aux caractéristiques du millésime ou aux modalités de leur élaboration.

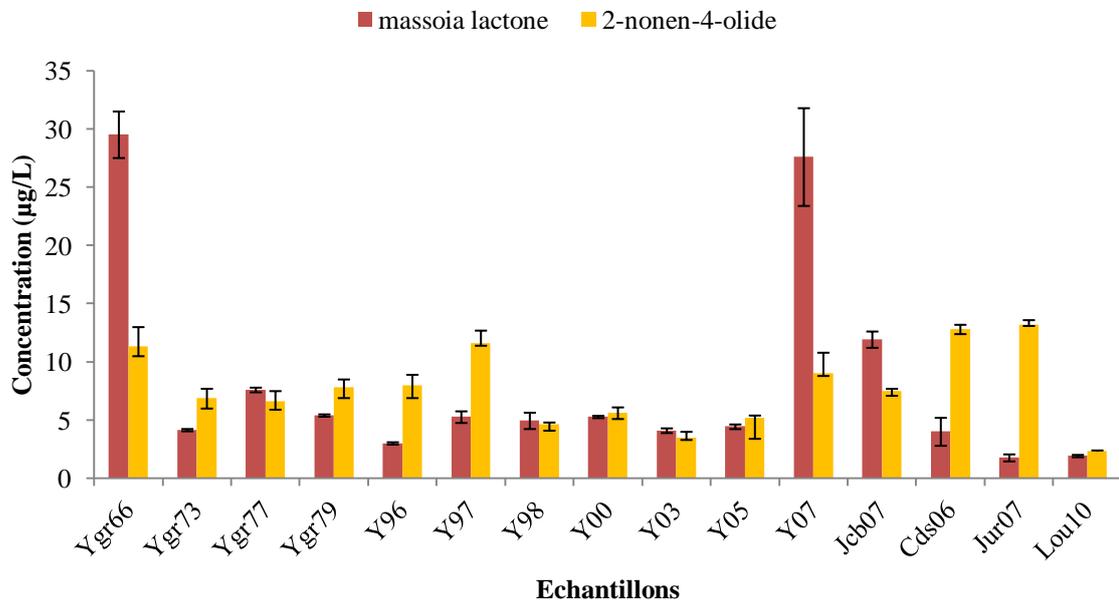


Figure 54 : Concentrations de la massoia lactone et le 2-nonen-4-olide ($\mu\text{g/L}$) dans des vins différents

Pour la massoia lactone, les valeurs sont en accord avec celles dosées par Sarrazin (2007), à l'exception des millésimes 2007 et 1966 qui présentent des teneurs plus élevées (respectivement 27 et 29 $\mu\text{g/L}$). Ces concentrations sont généralement inférieures au seuil de perception olfactive de 18 $\mu\text{g/L}$ en solution modèle (Sarrazin, 2007). Ces concentrations sont aussi généralement plus faibles que celles mesurées dans les vins rouges issus des raisins surmûris (teneurs autour de 15 $\mu\text{g/L}$) (Pons *et al.*, 2011). Les teneurs en 2-nonen-4-olide, comme rapporté dans le chapitre 6, fluctuent entre 1 et 19 $\mu\text{g/L}$. Des concentrations plus élevées sont notées pour les millésimes 1966, 1997, 2006 et 2007. Enfin, des concentrations élevées en 2-nonen-4-olide ont été mesurées pour le vin de Jurançon (13,2 $\mu\text{g/L}$). L'enquête auprès du producteur nous a confirmé l'hypothèse de départ, à savoir qu'il s'agissait en réalité d'un vin issu d'une récolte botrytisée ce qui n'était pas le cas des vins dont l'analyse est rapportée dans le chapitre 6.

8.1.2.3 Contribution des lactones du bois et de l'eugénol

Un aspect fondamental de l'élevage des vins est la dissolution des constituants aromatiques du bois. Lorsqu'ils sont parfaitement fondus avec les arômes du vin, ces composés contribuent à la richesse et à la complexité de celui-ci, tout en intervenant également dans la saveur. Comme cela a été démontré dans le chapitre précédent, les lactones du bois, ainsi qu'un phénol volatil, l'eugénol, sont des molécules importantes pour l'expression de l'arôme de fruits confits des vins liquoreux de pourriture noble.

La quantification de ces derniers est détaillée (**Tableau 34 & Figure 55**). Les isomères du 3-méthyl-4-octanolide sont des composés abondants dans les vins liquoreux de pourriture noble, cependant, les concentrations trouvées dans ces exemples de vins sont bien supérieures de celles retrouvées par Sarrazin (2007). L'effet d'un échantillonnage très différent peut expliquer cette variation, de même que les différentes modalités d'élevage ou l'utilisation de barriques neuves. Notons que l'échantillon Lou10 présente peu de composés issus du bois compte tenu d'une absence d'élevage du vin en barriques.

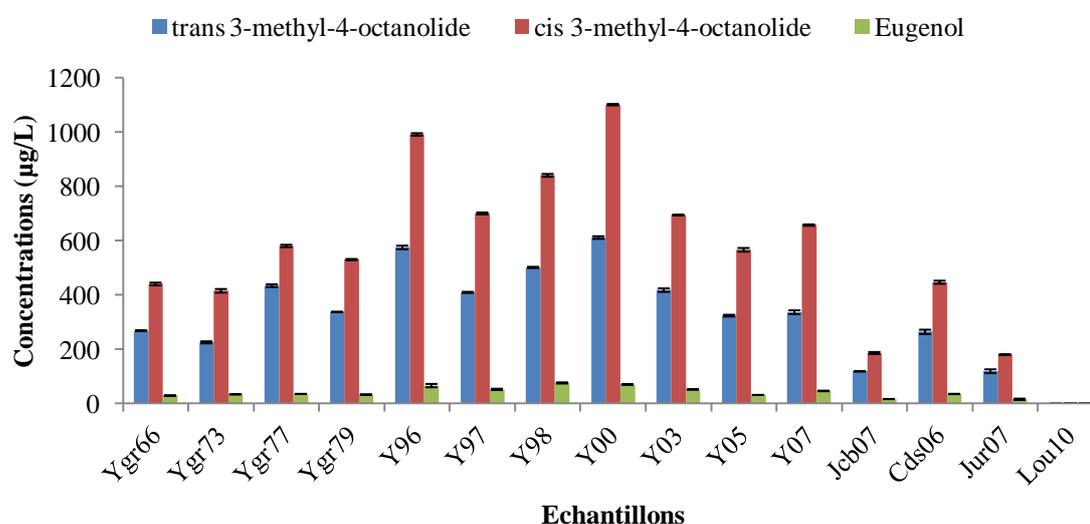


Figure 55 : Concentrations des isomères du 3-méthyl-4-octanolide et de l'eugénol dans des vins différents (µg/L)

Sur la représentation graphique, une différence dans chacun des isomères du 3-méthyl-4-octanolide est notée. Des concentrations plus élevées pour l'isomère cis sont constatées par rapport à l'isomère trans. De plus, le rapport cis/trans diffère selon les vins. Concernant la distribution isomérique du 3-méthyl-4-octanolide, une influence considérable de la nature du bois employée a été mise en évidence par Chatonnet (1995).

Tableau 34 : Concentration en µg/L des isomères du 3-méthyl-4-octanolide et de l'eugénol dans des vins différents

Vins	Identification	Millésime	Appellation	trans 3-méthyl-4-octanolide	cis 3-méthyl-4-octanolide	Eugénol
Ygrec	Ygr66	1966	Bordeaux	269 ± 1	440 ± 5	29,7 ± 1,6
Ygrec	Ygr73	1973	Bordeaux	225 ± 3	415 ± 6	34,5 ± 0,5
Ygrec	Ygr77	1977	Bordeaux	434 ± 5	580 ± 4	35,9 ± 0,3
Ygrec	Ygr79	1979	Bordeaux	337 ± 1	530 ± 2	33,3 ± 0,1
Château d'Yquem	Y96	1996	Sauternes	575 ± 6	991 ± 4	66,6 ± 6,1
Château d'Yquem	Y97	1997	Sauternes	409 ± 2	700 ± 3	52,6 ± 2,4
Château d'Yquem	Y98	1998	Sauternes	501 ± 2	840 ± 5	76,3 ± 2,1
Château d'Yquem	Y00	2000	Sauternes	611 ± 5	1100 ± 7	70,7 ± 0,8
Château d'Yquem	Y03	2003	Sauternes	418 ± 6	694 ± 1	52,5 ± 0,4
Château d'Yquem	Y05	2005	Sauternes	324 ± 3	566 ± 6	32,1 ± 0,2
Château d'Yquem	Y07	2007	Sauternes	336 ± 7	657 ± 2	46,9 ± 1,0
Château Laville	Jcb07	2007	Sauternes	119 ± 1	186 ± 3	17,1 ± 0,4
Castelnau de Suduiraut	Cds06	2006	Sauternes	264 ± 8	447 ± 5	35,8 ± 0,6
Domaine de Cauhapé	Jur07	2007	Jurançon	119 ± 7	180 ± 1	16,1 ± 2,6
Domaine de Rouquette	Lou10	2010	Loupiac	0,2 ± 0,1	2,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1
Seuil de perception (solution modèle)				104 ^a	40 ^a	11 ^b

^aChatonnet, 1995 ; ^bFerreira *et al.*, 1998

8.1.3 Analyse des Furanones

Plusieurs furanones peuvent jouer un rôle important dans les vins. En effet, Sarrazin, (2007), a déjà identifié ces molécules par CPG couplée à l'olfactométrie dans des extraits de vins liquoreux de pourriture noble. En dosant ces composés, elle a mis en évidence une corrélation entre les furanones et les nuances de sucre cuit.

Le furanéol®, l'homofuranéol et le norfuranéol sont tous déjà présents dans les vins blancs secs mais voient leurs concentrations augmenter significativement dans les vins liquoreux de pourriture noble. La raison est que les teneurs en furanones des vins sont directement liées au niveau de passerillage des raisins (Sarrazin *et al.*, 2007a). Dans cette étude, nous cherchons à étudier le comportement des furanones en regardant leur évolution dans un échantillonnage qui intègre les vins appartenant à de nombreux millésimes du même cru.

8.1.3.1 Quantification des Furanones

Pour la quantification des furanones, une extraction liquide-liquide est effectuée. Comme étalon interne nous avons choisi de travailler avec l'ethylmaltol. Il s'agit d'une pyranone dont la structure est similaire à celle du maltol. C'est un composé issu de la synthèse chimique et qui n'est donc pas retrouvé dans le vin. Les conditions de la quantification des furanones par CPG-SM, ainsi que les ions utilisés pour sa quantification, sont tous présentés dans le chapitre matériels et méthodes.

8.1.3.2 Analyse quantitative des furanones dans les vins

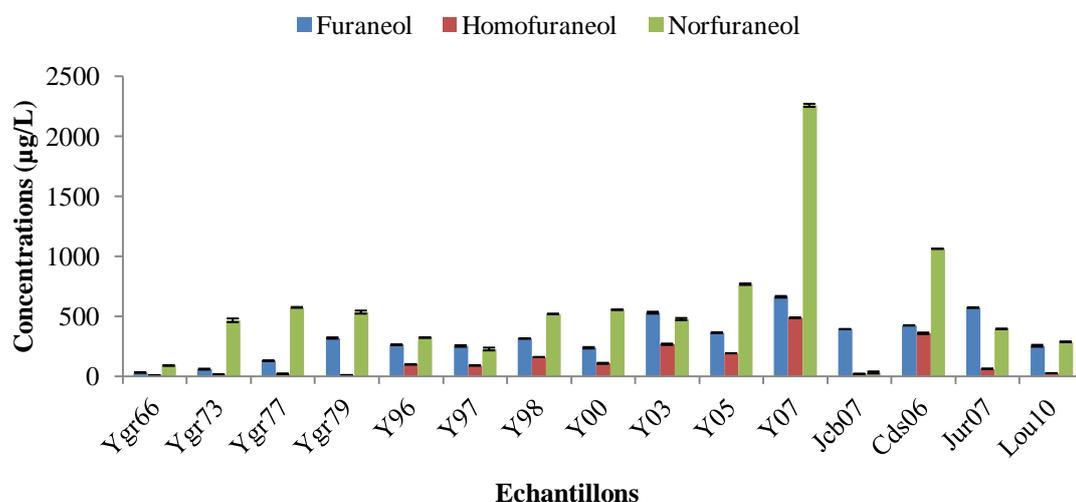
Les mêmes vins ont été analysés afin d'évaluer la contribution des furanones (**Tableau 35**). Les résultats montrent qu'à l'exception du norfuranéol, les composés furaniques sont toujours présents à des concentrations supérieures à leur seuil de perception dans les vins et sont donc à même de participer à l'expression aromatique des vins. Ainsi les résultats de quantification établissent la participation de ces composés à l'arôme de tous les vins liquoreux, vins de pourriture noble y compris.

Tableau 35 : Concentration en µg/L des 3(2H)-furanones dans des vins différents

Vins	Identification	Millésime	Appellation	Furanéol®	Homofuranéol	Norfuranéol
Y grec	Ygr66	1966	Bordeaux	29,1 ± 1	6,7 ± 1,0	87,3 ± 1,2
Y grec	Ygr73	1973	Bordeaux	57,4 ± 3	4,3 ± 1,9	464 ± 15
Y grec	Ygr77	1977	Bordeaux	127 ± 3	18,7 ± 1,4	572 ± 3,4
Y grec	Ygr79	1979	Bordeaux	316 ± 5	8,0 ± 0,5	532 ± 12
Château d'Yquem	Y96	1996	Sauternes	260 ± 8	96 ± 3	320 ± 8
Château d'Yquem	Y97	1997	Sauternes	250 ± 6	88 ± 2	225 ± 11
Château d'Yquem	Y98	1998	Sauternes	231 ± 1	158 ± 1	517 ± 2
Château d'Yquem	Y00	2000	Sauternes	235 ± 5	105 ± 4	552 ± 1
Château d'Yquem	Y03	2003	Sauternes	528 ± 8	264 ± 5	474 ± 9
Château d'Yquem	Y05	2005	Sauternes	361 ± 2	189 ± 7	765 ± 6
Château d'Yquem	Y07	2007	Sauternes	660 ± 6	486 ± 2	2256 ± 12
Château Laville	Jcb07	2007	Sauternes	391 ± 1	17,8 ± 0,6	29,6 ± 0,8
Castelnaud de Suduiraut	Cds06	2006	Sauternes	422 ± 3	356 ± 6	1061 ± 1,1
Domaine de Cauhapé	Jur07	2007	Jurançon	570 ± 3	60,1 ± 0,4	392 ± 0,7
Domaine de Rouquette	Lou10	2010	Loupiac	252 ± 7	24,0 ± 0,7	285 ± 2
Seuil de perception (solution modèle)				70 ^a	40 ^a	2000 ^a

^aSarrazin, 2007

Par ailleurs, comme noté par Sarrazin (2007), les teneurs en furanones sont plus faibles dans les vins les plus âgés (**Figure 56**).

**Figure 56** : Concentrations en µg/L des 3(2H)-furanones dans différents vins

Les millésimes les plus anciens présentent ainsi des concentrations plus faibles en furanones (teneurs inférieures au seuil de perception olfactive). Par conséquent, ces composés seraient dégradés au cours du vieillissement du vin. Sous l'action combinée de réactions d'oxydation et d'hydrolyse, Rowe (2004) a observé la décomposition du furanéol® en acide acétique, acide pyruvique, buta-2,3-dione et acétoïne. L'homofuranéol et le norfuranéol possédant des structures similaires à celle du furanéol®, il est probable qu'ils soient aussi caractérisés par la même instabilité. Cette propriété permettrait d'expliquer leur dégradation au cours du vieillissement, et par conséquent, leur contribution principale à l'arôme des vins jeunes.

8.1.4 Etude des aldéhydes de Strecker (Méthional et Phénylacétaldéhyde)

Les vins de pourriture noble sont souvent caractérisés par des nuances de miel. Parmi les molécules susceptibles de contribuer à ces notes aromatiques, le méthional et le phénylacétaldéhyde ont été identifiés (Sarrazin, 2007). Ces aldéhydes de Strecker ont déjà été décrits dans les vins (Escudero *et al.*, 2000 ; Silva Ferreira *et al.*, 2003a).

8.1.4.1 Quantification des aldéhydes de Strecker

Pour la quantification des aldéhydes, une extraction liquide-liquide est effectuée. Le 3-octanol est utilisé comme étalon interne. Les conditions analytiques pour la quantification de ces molécules par CPG-SM sont décrites dans le chapitre « matériels et méthodes ».

8.1.4.2 Analyse quantitatives des aldéhydes de Strecker dans les vins

Les résultats de quantification sont résumés dans le **Tableau 36**. Dans tous les vins liquoreux étudiés, les teneurs en phénylacétaldéhyde et en méthional sont supérieures à leur seuil de perception olfactif (30 µg/L pour le phénylacétaldéhyde, 2,4 µg/L pour le méthional, en solution modèle; Sarrazin, 2007).

Concernant le phénylacétaldéhyde, des teneurs moins importantes sont mesurées pour les millésimes plus anciens. Les aldéhydes, en raison de leur degré d'oxydation intermédiaire entre l'alcool et l'acide carboxylique, s'oxydent facilement pour former l'acide correspondant. La diminution de la concentration en phénylacétaldéhyde dans le vin suggère son oxydation en acide phénylacétique au cours du vieillissement.

Tableau 36 : Concentration en µg/L des aldéhydes de Strecker dans des vins différents

Vins	Identification	Millésime	Appellation	Méthional	Phénylacétaldéhyde
Ygrec	Ygr66	1966	Bordeaux	45,1 ± 1,1	259 ± 6
Ygrec	Ygr73	1973	Bordeaux	50,8 ± 1,7	78 ± 7
Ygrec	Ygr77	1977	Bordeaux	50,5 ± 1,8	120 ± 2
Ygrec	Ygr79	1979	Bordeaux	49,8 ± 1,1	73 ± 2
Château d'Yquem	Y96	1996	Sauternes	37,3 ± 1,0	87,9 ± 9
Château d'Yquem	Y97	1997	Sauternes	63,8 ± 0,6	73,3 ± 1
Château d'Yquem	Y98	1998	Sauternes	23,9 ± 0,5	77,2 ± 2
Château d'Yquem	Y00	2000	Sauternes	30,3 ± 1,5	98,3 ± 2
Château d'Yquem	Y03	2003	Sauternes	23,0 ± 0,9	44,5 ± 3
Château d'Yquem	Y05	2005	Sauternes	28,9 ± 1,7	77,6 ± 1
Château d'Yquem	Y07	2007	Sauternes	13,3 ± 0,3	120 ± 1
Château Laville	Jcb07	2007	Sauternes	24,1 ± 0,3	130 ± 1
Castelnau de Suduiraut	Cds06	2006	Sauternes	14,4 ± 0,6	112 ± 2
Domaine de Cauhapé	Jur07	2007	Jurançon	38,9 ± 0,3	263 ± 2
Domaine de Rouquette	Lou10	2010	Loupiac	42,7 ± 0,9	103 ± 4
Seuil de perception (solution modèle)				2,4 ^a	30 ^a

^aSarrazin, 2007

Dans le cas du phénylacétaldéhyde, des teneurs plus faibles sont notés dans les plus vieux millésimes, tandis que dans le cas du méthional, ce sont au contraire les millésimes plus anciens qui présentent des concentrations plus élevées. Ces observations rejoignent celles de Sarrazin *et al.*, 2007a) (**Figure 57**).

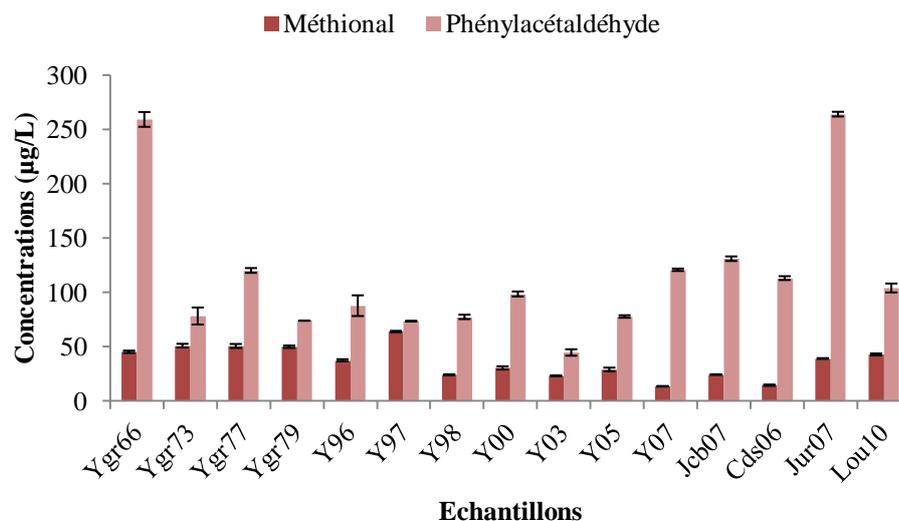


Figure 57 : Concentrations en µg/L des aldéhydes de Strecker dans différents vins

Dans les vins blanc secs élaborés à partir des raisins de pourriture noble, les concentrations sont plus élevées pour les vins dans les millésimes anciens tels que 1966, 1973, 1977 et 1979. Lors de la dégustation, ces vins présentent des notes aromatiques en lien avec leur évolution oxydative, expliquant ainsi les valeurs élevées en méthional.

8.1.5 Etude du 3-sulfanylhexanol

Dans les vins liquoreux de pourriture noble, certains thiols, et plus particulièrement le 3-sulfanylhexanol, occupent une place prépondérante. Le 3-sulfanylhexanol a déjà été décrit dans les vins liquoreux et figure parmi les composés clés de l'arôme (Tominaga, *et al.*, 1998; Tominaga *et al.*, 2000 ; Sarrazin, 2007) avec le 3-sulfanylheptanol et le 3-sulfanypentanol (Sarrazin, 2007; Sarrazin *et al.*, 2007b).

8.1.5.1 Quantification du 3-sulfanylhexanol

Afin de doser le 3-sulfanylhexanol, nous avons repris la méthode de quantification par Tominaga *et al.* (1998b). L'extraction des thiols repose sur la purification des thiols par une résine échangeuse d'anions, suivi d'une extraction liquide-liquide de l'extrait purifié.

Les conditions de la quantification sur CPG-SM ainsi que les ions utilisés sont décrits dans le chapitre « matériels et méthodes ».

8.1.6 Analyses quantitatives du 3-sulfanylhéxanol

En accord avec les travaux menés par Tominaga *et al.* (1998) et Sarrazin (2007), les concentrations en 3-sulfanylhéxanol dans les vins liquoreux sont très élevées et sont supérieures au seuil de perception olfactive du composé (60 ng/L), concentrations situées entre 2,4 et 8,3 µg/L (**Tableau 37**). Plusieurs études ont montré l'intérêt de la botrytisation dans l'amplification des teneurs en thiols volatils. *Botrytis cinerea* modifie aussi la composition des baies en induisant une augmentation de précurseurs d'arômes de nuances zestées, comme les précurseurs cystéinylés et glutathionylés (Thibon *et al.*, 2009, 2011).

Tableau 37 : Concentration en µg/L du 3-Sulfanylhéxanol dans différents vins

Vins	Identification	Millésime	Appellation	3SH
Ygrec	Ygr66	1966	Bordeaux	6,8 ± 0,3
Ygrec	Ygr73	1973	Bordeaux	4,6 ± 0,2
Ygrec	Ygr77	1977	Bordeaux	5,8 ± 0,1
Ygrec	Ygr79	1979	Bordeaux	7,4 ± 0,3
Château d'Yquem	Y96	1996	Sauternes	3,2 ± 0,4
Château d'Yquem	Y97	1997	Sauternes	7,4 ± 0,9
Château d'Yquem	Y98	1998	Sauternes	5,3 ± 0,3
Château d'Yquem	Y00	2000	Sauternes	5,8 ± 0,2
Château d'Yquem	Y03	2003	Sauternes	4,9 ± 0,1
Château d'Yquem	Y05	2005	Sauternes	4,6 ± 0,6
Château d'Yquem	Y07	2007	Sauternes	3,0 ± 0,6
Château Laville	Jcb07	2007	Sauternes	8,3 ± 0,6
Castelnaud de Suduiraut	Cds06	2006	Sauternes	2,4 ± 0,1
Domaine de Cauhapé	Jur07	2007	Jurançon	5,0 ± 0,3
Domaine de Rouquette	Lou10	2010	Loupiac	3,2 ± 0,3
Seuil de perception (solution modèle)				0,06 ^a

^aTominaga *et al.*, 1998b

Les analyses quantitatives de thiols volatils menées par Sarrazin (2007) ont aussi mis en évidence des teneurs plus faibles pour le 3-sulfanylhéxanol dans les vins de millésimes plus anciens. Dans le cadre de nos travaux, des teneurs élevées sont aussi mesurées pour des vins

de millésimes anciens, tant pour les vins blancs liquoreux que pour les vins blancs secs. Ceci est vraisemblablement dû à une présence à l'état de traces des polyphénols (catéchine et épicatechine) (Nikolantonaki *et al.*, 2010). Il est ainsi connu que la disparition de thiols résulte de leur piégeage par des composés phénoliques oxydés (quinones) qu'ils proviennent du raisin ou du bois (ellagitanins) selon le mécanisme d'addition de Michael. Dans les vins blancs liquoreux ayant une teneur plus faible en phénols comparée aux vins blancs secs, le mécanisme de piégeage des thiols après oxydation des phénols est donc moins important.

8.1.7 Analyses Sensorielles

8.1.7.1 Profils sensoriels

Lors des analyses instrumentales en vue de la quantification des composés dans les vins liquoreux, une analyse sensorielle de vins sélectionnés a été effectuée. Un certain nombre de vins liquoreux soumis aux analyses physicochimiques, ont ensuite été sélectionnés pour leur expression aromatique caractéristique des vins liquoreux dans divers registres au cours de dégustations préliminaires. Ces vins ont ensuite été soumis à des tests sensoriels orthonasal en verres noirs pour qualifier à la fois leur niveau de typicité mais aussi, selon un protocole d'analyse quantitative descriptive « QDA », l'intensité des différents descripteurs.

Plus particulièrement, les vins Jur07, Ygr79 et Lou10 ont été sélectionnés comme étant des exemples non typiques de vins liquoreux de pourriture noble. Notons que le vin Ygr79 présente les nuances d'une évolution oxydative, en particulier des notes caractéristiques de miel et de noix. Puis les vins Y07, Y05, Y00, Y98 et Y97 ont été sélectionnés comme étant des vins typiques de vins de pourriture noble, au travers les composantes aromatiques associées à une diversité de millésimes.

Lors des analyses sensorielles, six différents descripteurs ont été utilisés. L'intensité des arômes de « fruits frais », « fruits confits », « épicé », « boisé », de « miellé » et de « caramel », a été mesurée. La notation a été effectuée sur une échelle non structurée de 0 (=moins intense) à 10 (=plus intense). Ensuite, le niveau de typicité pour les vins liquoreux de pourriture noble a été apprécié selon le protocole de Ballester *et al.*, (2005) mais dans une échelle non structurée.

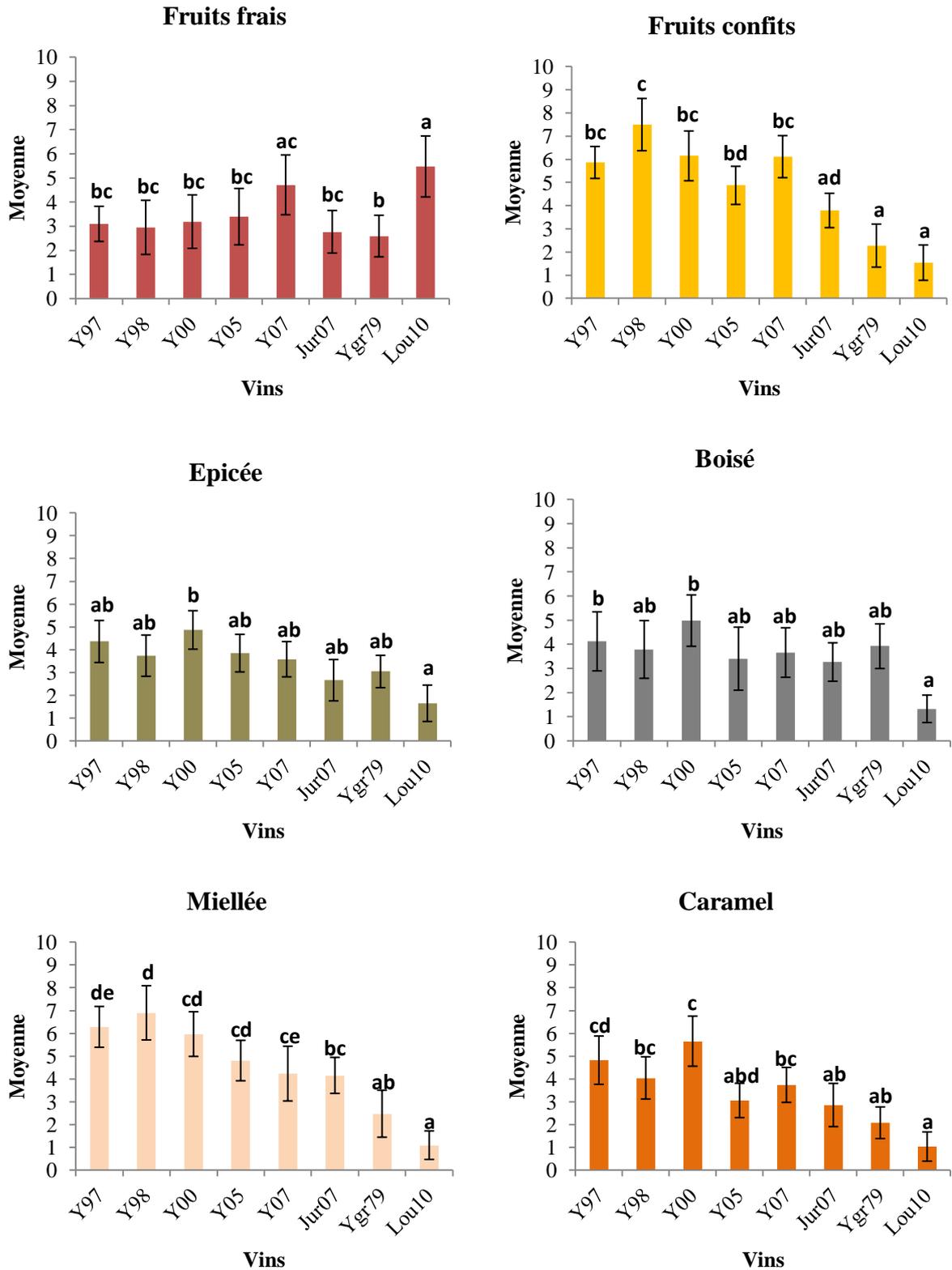


Figure 58 : Résultats des notations de profil sensoriel pour les différents vins

Les résultats des analyses sensorielles montrent des différences significatives entre les échantillons pour les différents descripteurs (**Figure 58**). D'abord, pour le descripteur « fruits frais », une note élevée a été perçue pour l'échantillon Lou10. Ensuite, pour le descripteur « fruits confits », des moyennes plus élevées ont été constatées pour les échantillons Y97, Y98, Y00, Y05, Y07.

L'interprétation des résultats pour les descripteurs « épice » et « boisé » n'a pas montré de différences importantes entre les échantillons, excepté pour l'échantillon Lou10, alors que paradoxalement, la quantification des composés responsables de ces descripteurs (eugénol, 3-méthyl-4-octanolide), montrent des différences très significatives entre les échantillons. Par exemple, si l'on prend le cas de l'échantillon Lou10, les composés concernés sont présents à l'état des traces tandis qu'ils sont de plusieurs centaines de $\mu\text{g/L}$ pour l'échantillon Y. Ces résultats laissent penser que le caractère « boisé » est peu reconnu dans ces vins liquoreux de pourriture noble. Concernant les descripteurs des arômes de miel et de caramel, les vins Y, présentent des valeurs plus élevées.

Quant au niveau de typicité, il ressort de l'analyse statistique que les vins Y présentent des échantillons typiques de vins de pourriture noble, avec des valeurs élevées (**Figure 59**). De plus, ces échantillons sont significativement différents par rapport aux vins Jur07, évidemment Ygr79 et Lou10.

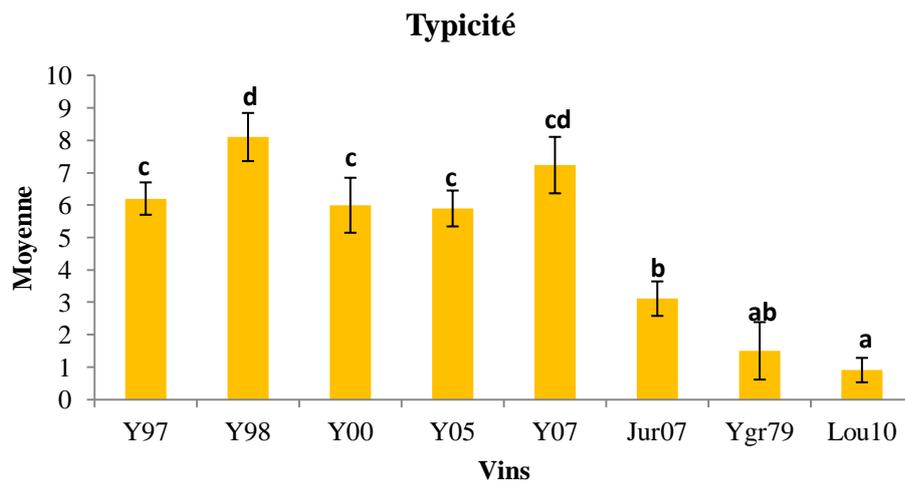


Figure 59 : Notation sur le niveau de typicité pour les différents vins.

D'ailleurs, un test de Spearman a montré une corrélation très significative ($p < 0,01$) entre le niveau de typicité et le descripteur de l'arôme de fruits confits rejoignant les observations présentées dans le chapitre 7 (**Figure 60**).

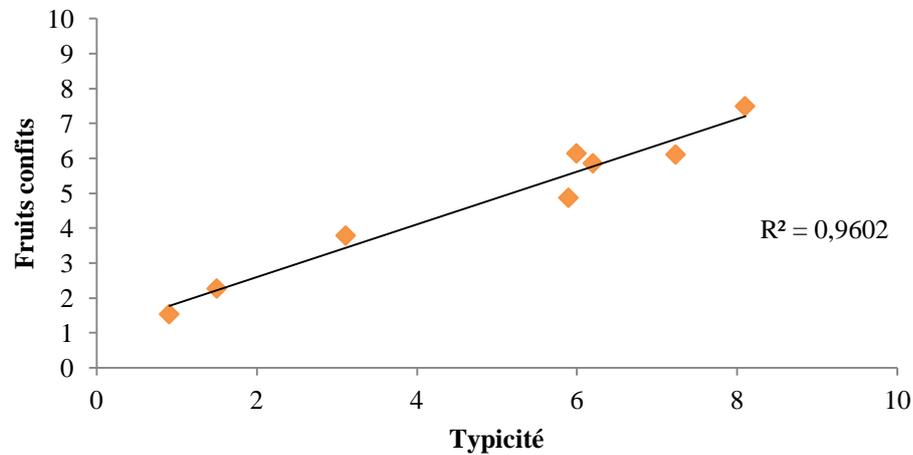


Figure 60 : Corrélation entre le niveau de typicité et l'arôme de fruits confits pour les vins considérés au cours de l'étude

A partir de ces résultats de corrélation entre le niveau de typicité et l'arôme de fruits confits, la même expérimentation a été effectuée, mais avec un nombre d'échantillons plus important. Le même protocole d'analyse sensorielle a été utilisé afin de confirmer l'hypothèse de la corrélation de la typicité avec la note des fruits confits. Pour cela des vins issus des trois expériences sensorielles (liste des échantillons : voir annexe) ont été utilisés. Afin de pouvoir comparer les échantillons entre eux, les jeux de données ont été normalisés. Le test de corrélation de Spearman montre une corrélation positive entre la nuance de « fruits confits » et la typicité ($p < 0,01$) (**Figure 61**).

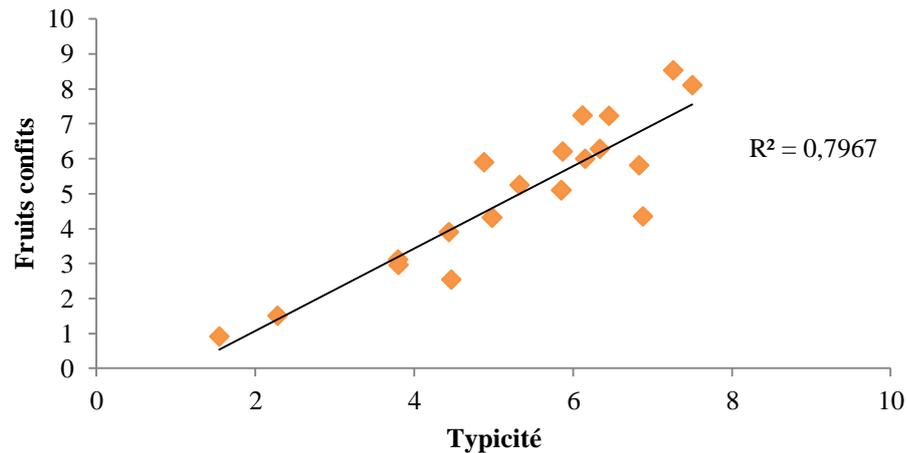


Figure 61 : Analyse de la corrélation entre le niveau de typicité et l'arôme de fruits confits pour différents vins associés à plusieurs expérimentations sensorielles

8.1.7.2 Corrélation entre les différents constituants aromatiques et l'analyse sensorielle

A partir des résultats obtenus concernant les analyses sensorielles et les résultats des quantifications des différents vins, une analyse en composantes principales a été effectuée. Cette analyse nous permet d'avoir une représentation graphique qui permet de comparer les individus (vins) sur la base de leur différence pour plusieurs variables. Dans ce cas présent, les variables sont les différents composés dosés, plus les différents descripteurs olfactifs pour les vins considérés.

Comme le montre la **Figure 62**, le traitement statistique permet d'obtenir un plan formé par les axes 1 & 2 qui permet d'expliquer environ 62% de la variation totale. La construction de l'ACP fait ressortir clairement une forte corrélation entre des variables. Les descripteurs comme « fruits confits », « boisé », « épiced », « caramel » et « miel » sont fortement liés avec les composés comme les isomères du 3-méthyl-4-octanolide, l'eugénol, le 2-nonen-4-olide et la γ -octalactone. De plus, toutes les variables mentionnées ci-dessus sont aussi liées au niveau de la typicité des vins liquoreux de pourriture noble.

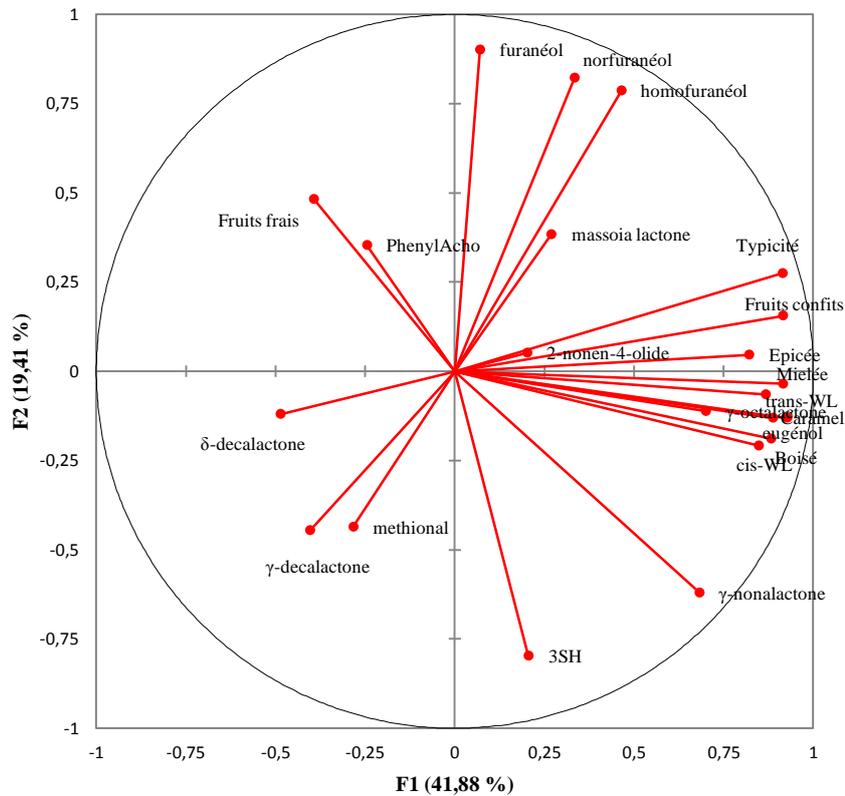


Figure 62 : Illustration des variables par Analyse en Composante Principale

L'ACP construite pour les individus (vins) en corrélation avec les descripteurs sensoriels permet de positionner les différents vins par rapport leur différence sensorielle et montre clairement la différence qui existe au niveau de la typicité des vins. Les vins qui sont placés du côté négatif de l'axe 1 représentent les échantillons qui sont considérés comme moins typiques lors des expériences sensorielles, et correspondent aux échantillons suivants : Lou10, Ygr 79, et Jur07 (**Figure 63**).

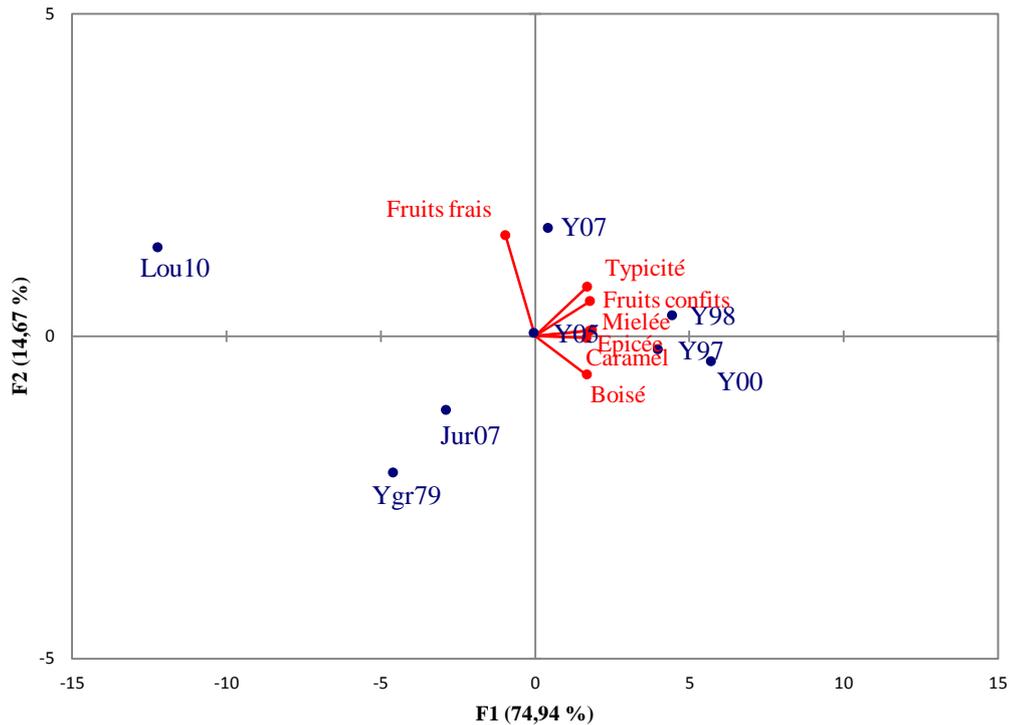


Figure 63 : Illustration des individus (vins) en corrélation avec les différents descripteurs par Analyse en Composantes Principales

8.2 ETUDE COMPARATIVE DE LA COMPOSITION AROMATIQUE DU MEME VIN ISSU D'UN ELEVAGE EN BARRIQUES OU EN CUVE D'ACIER INOXYDABLE

8.2.1 Introduction

L'élevage des vins est la période comprise entre la fin de la vinification et la mise en bouteille. Sa durée est très variable selon l'origine, la nature et la qualité du vin considéré. Il doit permettre de stabiliser le vin et de préparer les grands vins à un vieillissement en bouteille plus ou moins long. Cette période est le siège de nombreuses modifications du contenu du vin, accompagnées d'une évolution de sa couleur et de sa saveur. Les conditions du travail du vin et la nature du contenant ont une incidence très marquée sur ces évolutions, liées aux phénomènes d'oxydoréduction dont le vin est le siège.

Au cours de ce travail, l'importance de l'élevage en barriques sur le registre de l'arôme de fruits confits et plus particulièrement de l'orange confite, a été montré. Ces notes aromatiques sont fortement liées aux substances aromatiques extraites du bois, et notamment les isomères du 3-méthyl-4-octanolide, l'eugénol et aussi à des constituants aromatiques issus de la pourriture noble telles que les lactones, en particulier le 2-nonen-4-olide.

Dans cette partie, une étude comparative entre un vin liquoreux issu du même lot, vinifié et élevé soit en cuve d'acier inoxydable soit en barriques, a été réalisée. Le but de cette expérimentation est, dans un premier temps, de comparer la composition aromatique des vins et d'étudier ensuite l'influence des modalités d'élevage sur le registre d'arôme de fruits confits intégrant les notes d'orange confite des vins considérés.

8.2.2 Protocole expérimentale

8.2.2.1 Étude sur la composante aromatique

Pour l'étude comparative, le moût provenant d'un même lot (lot 18-cépage Sémillon-millésime 2011) a été utilisé. Après débouillage du moût, celui-ci a été soutiré et la fermentation alcoolique a débuté spontanément. Après 48 heures, le moût en fermentation a été entonné dans deux fûts de 50 litres et dans 3 barriques neuves de 225 litres. La fermentation alcoolique des deux lots (cuve, inox) a été suivie et le mutage effectué au même niveau de titre alcoométrique volumique. Après mutage, les lots ont été soutirés et l'élevage a eu lieu dans les mêmes barriques que celles utilisées pour la fermentation alcoolique ou en fut d'acier inoxydable intégrant un soutirage tous les 6 mois. Toutes les analyses physico-chimiques et sensorielles ont été réalisées pendant 18 mois après la fin de la fermentation alcoolique. Les caractéristiques œnologiques principales des vins ont été déterminées en fin de la fermentation alcoolique et après mutage (**Tableau 38**).

Tableau 38 : Caractéristiques physico chimiques des vins issus du lot18 en fin de fermentation alcoolique

Echantillons	TAV	SR	AT	pH	AV	Date Récolte	CEPAGE
LOT 18 Bq	13,35	155	3,9	3,80	0,81	26/09/2011	SEMILLON
LOT 18 In	13,55	150	3,8	3,80	0,65	26/09/2011	SEMILLON

SR : sucres réducteurs (g/L) ; AT : acidité totale (g/L en H₂SO₄) ; AV : acidité volatile (g/L en H₂SO₄) ; TAV : titre alcoométrique volumique (% vol)

L'analyse quantitative de lactones, furanones, aldéhydes de Strecker et thiols volatils d'origine variétale a été effectuée à la fin des 18 mois d'élevage (**Tableaux 39 & 40**). L'étude particulière des lactones ne montre pas de différences importantes entre les modalités inox et barrique sinon la présence de teneurs en 2-nonen-4-olide plus élevées dans la modalité barrique par rapport à la modalité inox alors que les autres lactones voient leur concentration accrue dans la modalité inox. Concernant les lactones du bois et l'eugénol, la différence est évidente avec la présence de composés du bois de manière très significative. Les expériences de quantifications montrent des valeurs à 600 µg/L de trans 3-méthyl-4-octanolide et 667 µg/L de cis 3-méthyl-4-octanolide. La teneur en eugénol est de 59 µg/L.

Ensuite, concernant les furanones, une différence assez marquante est observée entre les modalités barriques et inox. La modalité barrique présente des teneurs beaucoup plus élevées par rapport à la modalité inox. Pour la norfuranéol, la teneur dans la modalité barrique est de 4007 µg/L alors qu'elle est de 1505 µg/L dans la modalité inox. L'homofuranéol présente, lui, une teneur de 987 µg/L sur la modalité barrique et une teneur de 158 µg/L sur la modalité inox. Ce point n'avait jamais été noté et questionne sur les paramètres qui ont conduit à un tel écart de concentration. Vraisemblablement, le bois de chêne et peut-être les modalités d'élevage en barrique contribuent à l'accroissement des concentrations en furanones. Pour le phénylacétaldéhyde, des valeurs plus élevées sont aussi notées dans la modalité barrique. Au contraire, le méthional reste dans des valeurs situées aux environs de 35 µg/L pour les deux modalités. Enfin, des valeurs nettement plus élevées pour le 3SH sont notées dans la modalité inox résultat d'une moindre réactivité des thiols au cours de l'élevage moins oxydatif par rapport aux barriques. D'ailleurs, l'oxydation des tanins du bois peut contribuer dans le vin en barrique à la réactivité des thiols.

Tableau 39 : Concentration des lactones en µg/L dans les modalités Barriques (Bq) et Inox (In)

Vins	Identification	Millésime	Appellation	γ-octalactone	γ-nonolactone	γ-décalactone	δ-décalactone	massoia lactone	2-nonen-4-olide
Château d'Yquem	Y11Bq	2011	Sauternes	4,5 ± 0,2	14,7 ± 0,3	1,6 ± 0,2	2,8 ± 0,1	4,7 ± 0,4	7,2 ± 0,8
Château d'Yquem	Y11In	2011	Sauternes	4,9 ± 0,3	17,4 ± 0,4	2,1 ± 0,1	4,3 ± 0,2	5,4 ± 0,2	4,2 ± 0,2

Vins	Identification	Millésime	Appellation	trans 3-méthyl-4-octanolide	cis 3-méthyl-4-octanolide	Eugénol
Château d'Yquem	Y11Bq	2011	Sauternes	600 ± 4	670 ± 6	59 ± 1
Château d'Yquem	Y11In	2011	Sauternes	nd	nd	nd

nd : non détectée

Tableau 40 : Concentration des composés aromatiques en µg/L dans les modalités Barriques (Bq) et Inox (In)

Vins	Identification	Millésime	Appellation	Furanéol®	Homofuranéol	Norfuranéol	Méthional	Phénylacétaldéhyde	3SH
Château d'Yquem	Y11Bq	2011	Sauternes	711 ± 2	987 ± 1	4007 ± 5	35,8 ± 0,8	112 ± 2	2,2 ± 0,3
Château d'Yquem	Y11In	2011	Sauternes	588 ± 2	158 ± 1	1505 ± 3	37,3 ± 1,0	87,6 ± 8,5	3,8 ± 0,2

3SH : 3-Sulafnylhexanol

8.2.3 Analyse Sensorielle comparative entre les modalités Barrique-Inox

8.2.3.1 Modalités expérimentales

Les analyses sensorielles se sont déroulées, avec le panel 3, au mois de Juin 2013 soit 18 mois après la fin de l'élevage. Brièvement, pour l'établissement de profils sensoriels, chaque descripteur a été évalué et positionné en fonction de l'intensité mesurée en utilisant une échelle de notation comprenant une échelle non structurée de 0 à 10 cm, portant la mention « Peu intense » sur la gauche et « Très intense » sur la droite. Les six descripteurs sélectionnés étaient « fruits frais », « fruits confits », « boisé », « épice », « caramel », « miel » et en plus la notation de la typicité a été demandée. Ces descripteurs ont été choisis comme des descripteurs typiques de vins liquoreux de pourriture noble.

8.2.3.2 Résultats

Les notes moyennes attribuées par le panel montrent des différences significatives concernant les descripteurs de « fruits confits », de « miel », de « caramel » et pour le niveau de typicité du vin (**Figure 64**). Ainsi, le vin liquoreux de 2011 fermenté et élevé en barriques est ainsi considéré comme très différent pour les descripteurs préalablement évoqués et pour le niveau de typicité, du vin fermenté et élevé en fûts d'acier inoxydable. Ces résultats sont en accord avec des niveaux de concentrations plus élevés en composés du bois (lactones du bois, eugéno), furanones, phénylacétaldéhyde et aussi en 2-nonen-4-olide, dans le vin fermenté et élevé en barriques malgré une moindre teneur en 3-sulfanylhéxanol.

Ces résultats confortent les travaux présentés dans le chapitre 7 concernant le rôle de composés du bois de chêne (lactones du bois, eugéno) dans la perception de nuances aromatiques associées à des descripteurs de « fruits confits ». Ainsi, dans un vin liquoreux riche et complexe tel que celui considéré dans cette étude, l'exacerbation des nuances aromatiques de « fruits confits » est bien associée à des composés du bois. Paradoxalement, il est surprenant de noter qu'aucune différence significative n'ait été établie entre les échantillons pour les descripteurs « boisé » et « épice », alors que les différences de concentration de composés du bois sont aussi manifestes. Ainsi, la construction d'image sensorielle complexe dans la valorisation de la typicité des vins par des phénomènes d'accord

aromatique, et potentiellement d'effets de masquage (composés volatils associés aux notes boisées) contribue à souligner l'importance de ces phénomènes d'interactions perceptives impliquant des composés volatils dans l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble.

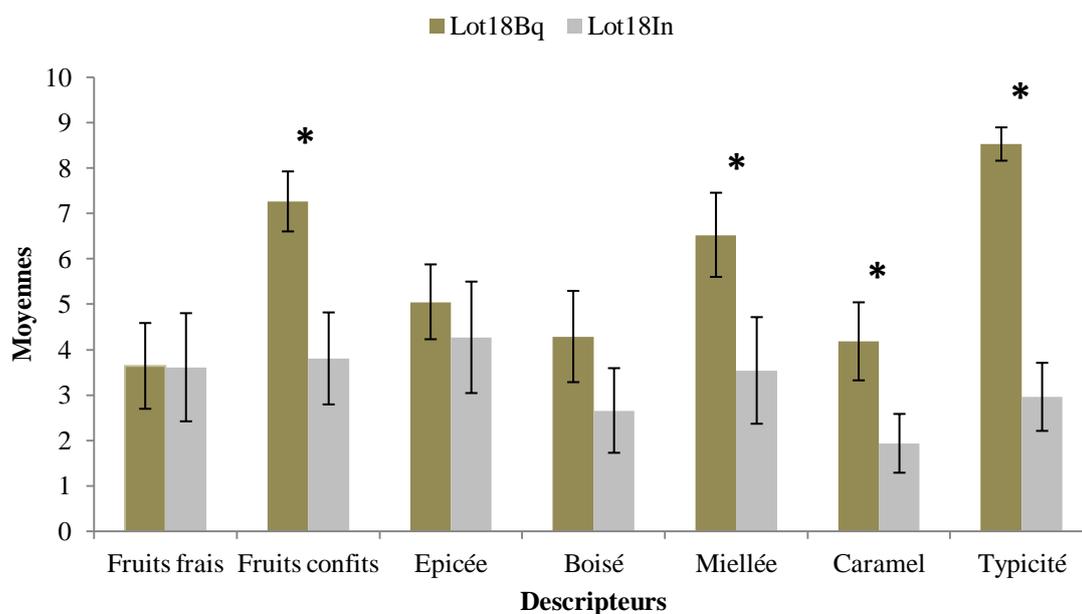


Figure 64 : Notes moyennes des descripteurs en fonction de la modalité d'élevage ; * : différence significative ($p < 0,01$)

D'autre part, les modalités de fermentation et d'élevage des vins liquoreux en barriques semblent favorables à la formation de composés tels que le phénylacétaldéhyde et plusieurs furanones, composés qui présents dans les vins à des niveaux de concentrations supérieurs à leur seuil de détection peuvent contribuer à l'accroissement de notes miellées et de caramel. Lors de l'évaluation sensorielle, une partie du panel a souligné que le bouquet de la modalité inox s'apparente plutôt à un « vin sec » qu'à un vin liquoreux. La teneur plus élevée en 3-sulfanylhéxanol peut participer à cette différenciation. Ainsi, dans le cas de vins liquoreux de pourriture noble, l'utilisation des barriques est apparemment un moyen d'élaborer des vins typiques. Les travaux confortent les observations empiriques concernant l'usage du bois pour la fermentation et l'élevage des vins liquoreux de pourriture noble les plus riches.

8.3 DISCUSSION-CONCLUSION

Les expériences de quantifications des composés liés aux vins de pourriture noble et de corrélation avec l'expression aromatique de ces vins ont permis de préciser leur contribution de ces composés, et aussi de lever de nouvelles perspectives par rapport au rôle des certains composés.

Plus particulièrement, les quantifications de lactones ont permis de relever des différences par rapport aux études effectuées par Sarrazin, (2007). La différence majeure se situe sur la quantification des isomères du 3-méthyl-4-octanolide. Celle-ci s'expliquerait par l'échantillonnage, mais également par une gestion de l'élevage en barriques différentes en fonction des domaines. Concernant les autres lactones, un effet millésime semble être associé avec les concentrations en massoia lactone ainsi qu'en 2-nonen-4-olide. L'analyse du méthional et de la phénylacétaldéhyde, à l'origine dans les vins blancs secs de notes d'évolution oxydatives (Escudero *et al.*, 2000 ; Lavigne & Dubourdieu, 2002 ; Silva Ferreira *et al.*, 2003), a aussi confirmé leur participation active à l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble, comme les furanones et le 3-sulfanylhéxanol. Néanmoins, cette étude indique un comportement distinct des furanones selon le contenant pour la fermentation et l'élevage, les concentrations les plus élevées étant retrouvées lors d'une fermentation puis élevage en barriques.

Traditionnellement, l'élevage des grands vins liquoreux, depuis la fin de la vinification jusqu'à la mise en bouteille, est réalisé en barriques. La dissolution de composés provenant du bois de chêne peut avoir des conséquences favorables sur l'élaboration des vins. Les expériences de la comparaison entre la modalité barrique et inox ont montré des différences significatives concernant les composés aromatiques. Tout d'abord, la différence entre les lactones du bois et l'eugénol est bien évidente. À partir de nos expériences, nous pouvons constater que le bois de chêne est capable de libérer dans le vin d'autres composés aromatiques qui ne sont pas liés au bois de chêne. La libération de certains sous-produits de fermentation comme les furanones et le phénylacétaldéhyde est bien évidente avec la modalité barrique. En accord avec les travaux de Jarauta *et al.*, (2005), des composés non associés avec le bois de chêne peuvent être libérés au cours de l'élevage à partir de précurseurs non volatils. Les phénomènes d'oxydoréduction peuvent être à l'origine de la formation de composés comme certains aldéhydes par exemple, dont le phénylacétaldéhyde.

Les analyses sensorielles ont montré des différences entre échantillons qui sont liées à la fois à des différences de composition ainsi qu'à des différences d'élaboration du vin. Les vins les plus typés présentent des différences pour quelques descripteurs spécifiques. Une corrélation positive entre les descripteurs de fruits confits et la typicité, a été mise en évidence. De plus, les descripteurs tels que « miel » et « caramel » sont bien notés sur les vins typés. Ensuite le traitement statistique, qui intègre à la fois les résultats de quantification et les résultats des analyses sensorielles, montre la corrélation qui existe entre les différents descripteurs sensoriels et les composés dosés. Une forte corrélation a été mise en évidence, entre les lactones du bois, l'eugénol, le 2-nonen-4-olide et la γ -octalactone et les descripteurs comme les « fruits confits » et la typicité des vins liquoreux. Ces résultats sont en accord avec ceux de Sarrazin *et al.* (2008) par rapport la forte corrélation des lactones avec la typicité des vins liquoreux de pourriture noble.

Les analyses sensorielles valident les résultats de quantification en attribuant des valeurs élevées sur la modalité barrique. Les descripteurs les mieux notés sont les « fruits confits », le « miel » et le « caramel ». Paradoxalement, les descripteurs des notes « boisées » et « épicées », fortement liées aux élevages en barriques, sont notés de la même façon sur les deux modalités. Le masquage des composés du bois sur la modalité barrique sera la base d'une étude ultérieure. L'apport de l'élevage en barrique sur la typicité vérifie d'abord l'utilisation des barriques pour l'élaboration des grands vins, mais également la corrélation des composés du bois avec la typicité des vins liquoreux (Sarrazin, 2007).

Ce travail montre donc l'intérêt de l'utilisation de barriques de bois de chêne pour l'élaboration de grands vins liquoreux issus de pourriture noble. Le vin acquiert une complexité aromatique liée aux substances extraites du bois. Ainsi, le vinificateur doit tenir compte de la structure générale du vin dans laquelle les notes boisées se fondent plus au moins bien. Il semble que les vins liquoreux de pourriture noble peuvent supporter des élevages de longue durée. La gestion du caractère boisé est un élément prépondérant à l'élaboration des grands vins, mais ne doit en aucun cas dominer les caractéristiques intrinsèques de ceux-ci.

**9 APPLICATIONS TECHNOLOGIQUES. ETUDE DE LA
GENESE DU 2-NONEN-4-OLIDE EN LIEN AVEC
DEVELOPPEMENT DE LA POURRITURE NOBLE DES
RAISINS ET SELON LES MODALITES D'ELEVAGE DES
VINS**

9.1 INFLUENCE DU DEVELOPPEMENT DE LA POURRITURE NOBLE DANS LA GENESE DE LACTONES

9.1.1 Introduction

Certaines lactones jouent un rôle prépondérant dans l'expression aromatique des vins de pourriture noble. Aussi pour compléter les travaux de Miklósy & Kerényi (2004) et Sarrazin (2007) qui ont établi le rôle de la pourriture noble dans la genèse des lactones des raisins et des vins, nous avons conduit une étude dans le vignoble du Sauternais ayant pour objectif de préciser les modalités de formation du 2-nonen-4-olide en fonction du stade de développement de pourriture noble, en regard des autres lactones connues. Le but de ce travail est, dans un premier temps, de confirmer les résultats de Sarrazin (2007) en les complétant et de considérer aussi la confrontation de la surmaturation sur deux types de terroirs. Cette étude a ainsi été menée, en 2012, sur deux parcelles d'un grand cru classé de Sauternes présentant des caractéristiques pédologiques différentes et classées différemment d'un point de vue de leur potentiel qualitatif.

9.1.2 Modalités expérimentales

Les deux parcelles expérimentales sont délimitées sur des terroirs qualitatifs plantées exclusivement en Sémillon.

Le sol de la parcelle 44.2 est basique avec un enracinement moyen qui est limité par la compacité du sol. La réserve en eau est bonne, surtout en profondeur ; celle-ci est rendue disponible par capillarité. Le taux de matière organique est de 1,2%. L'horizon humifère et l'horizon structural présentent plus de 5% de carbonate de calcium et des Capacités d'Echange Cationiques saturées. L'indice de pouvoir chlorosant est faible du fait de la présence importante de fer. Le sol de la parcelle 44.2 est caractérisé comme **Calcosol**.

Le sol de la parcelle 51 est acide avec un enracinement faible à moyen à cause de la texture sableuse. La réserve en eau est faible, relative à la texture et au système racinaire peu dense. Le taux de matière organique est à 2.2%, modéré par une vitesse de minéralisation importante. La Capacité d'Echange de Cations est assez faible compte tenu de la proportion

des éléments grossiers. Le sol de la parcelle 51 est caractérisé comme **Peyrosol** non podzolisé.

Les profils des fosses pédologiques de sols sont présentés sur la **Figure 65**.

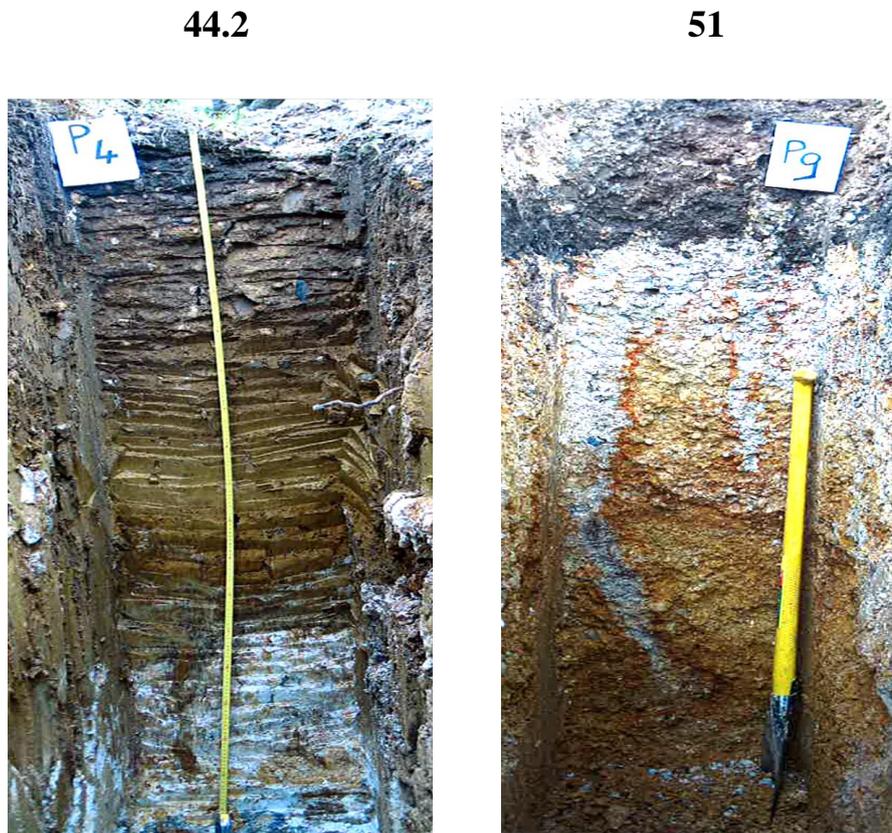


Figure 65 : Profils des fosses pédologiques pour la parcelle 44.2 (à gauche) et la parcelle 51 (à droite)

Les baies ont été ramassées sur les parties hautes, moyennes, basses, ensoleillées et ombragées des grappes. Les prélèvements ont été réalisés à quatre stades de développement de *Botrytis cinerea* :

- ✓ Stade sain : baies à maturité non atteintes par botrytisation.
- ✓ Stade pourri plein : baies dont la surface a entièrement été colonisée par *Botrytis cinerea*. Les baies prennent une couleur brun-chocolat mais ne sont pas encore concentrées.

- ✓ Stade pourri rôti : baies entièrement colonisées par *Botrytis cinerea* et déshydratées. Du fait de la dessiccation, les baies sont très riches en sucres, ce qui augmente la pression osmotique à l'intérieur de celles-ci et empêche le champignon de poursuivre son développement.
- ✓ Stade pourri vieux : baies marquées au stade pourri rôti et ramassées 10 jours après.

Les jus des raisins sont obtenus et analysés selon les conditions décrites dans le chapitre « matériels et méthodes » (**Tableau 41**).

Tableau 41 : Caractéristiques des analyses œnologiques des moûts prélevés

Parcelle	Stade	Identification	Date de Récolte	Poids moyenne des baies	SR	TAP	AT	pH	AV
44,2	sain	44.2-S	02/10/12	2,4	223	13,1	3,09	3,42	<0,5
	pourri plein	44.2-PP	05/10/12	2,3	279	16,4	3,18	3,66	0,6
	pourri rôti	44.2-PR	15/10/12	1,8	367,3	20,4	3,04	3,87	0,16
	pourri vieux	44.2-PV	29/10/12	1,1	370	20,55	1,86	3,96	0,12
51	sain	51-S	02/10/12	3,2	212	12,5	3,04	3,50	<0,5
	pourri plein	51-PP	05/10/12	2,8	287	16,9	3,09	3,77	0,6
	pourri rôti	51-PR	10/10/12	1,4	359,3	19,96	2,4	4,11	0,12
	pourri vieux	51-PV	29/10/12	1,1	391,3	19,69	3,33	3,84	0,17

SR : sucres réducteurs (g/L) ; AT : acidité totale (g/L en H₂SO₄) ; AV : acidité volatile (g/L en H₂SO₄) ; TAP : titre alcoométrique potentiel (% vol) ; Poids des baies (gr)

9.2 ANALYSE DES CONCENTRATIONS EN LACTONES AU COURS DE LA BOTRYTISATION DES RAISINS

9.2.1 Analyses de jus de raisins

Les résultats de quantification des lactones dans les moûts à différents stades de botrytisation sont présentés dans le **Tableau 42**.

Tableau 42 : Quantification des différentes Lactones ($\mu\text{g/L}$) dans les moûts en fonction des différents stades de botrytisation

Parcelle	Stade de Botrytisation	identification	γ -octalactone	γ -décalactone	δ -décalactone	γ -nonalactone	massoia lactone	2-nonen-4-olide
44,2	sain	44,2s	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$0,83 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	nd
	pourri plein	44,2pp	$1,1 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,2$	$4,94 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,2$
	pourri rôti	44,2pr	$1,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,3$	$4,96 \pm 0,8$	$8,7 \pm 0,5$	$8,5 \pm 0,4$
	pourri vieux	44,2pv	$1,1 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,2$	$13,8 \pm 0,8$	$7,85 \pm 0,6$	$7,2 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,7$
51	sain	51s	$0,4 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,01$	$1,2 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$	nd
	pourri plein	51pp	$0,8 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,2$	$10,3 \pm 0,9$	$6,9 \pm 0,9$	tr
	pourri rôti	51pr	$0,7 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,2$	$14,5 \pm 1,3$	$17,1 \pm 1,2$	$7,7 \pm 0,6$
	pourri vieux	51pv	$1,2 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,6$	$19,8 \pm 1,2$	$15,4 \pm 0,9$	tr

tr : traces ; nd : non détecté

Nous constatons des teneurs variables selon le composé, le stade de botrytisation et la parcelle étudiée. Pour les γ -octalactone et γ -décalactone, des teneurs très faibles, sont mesurés quelque soit la parcelle ou le stade de botrytisation (**Figure 66**).

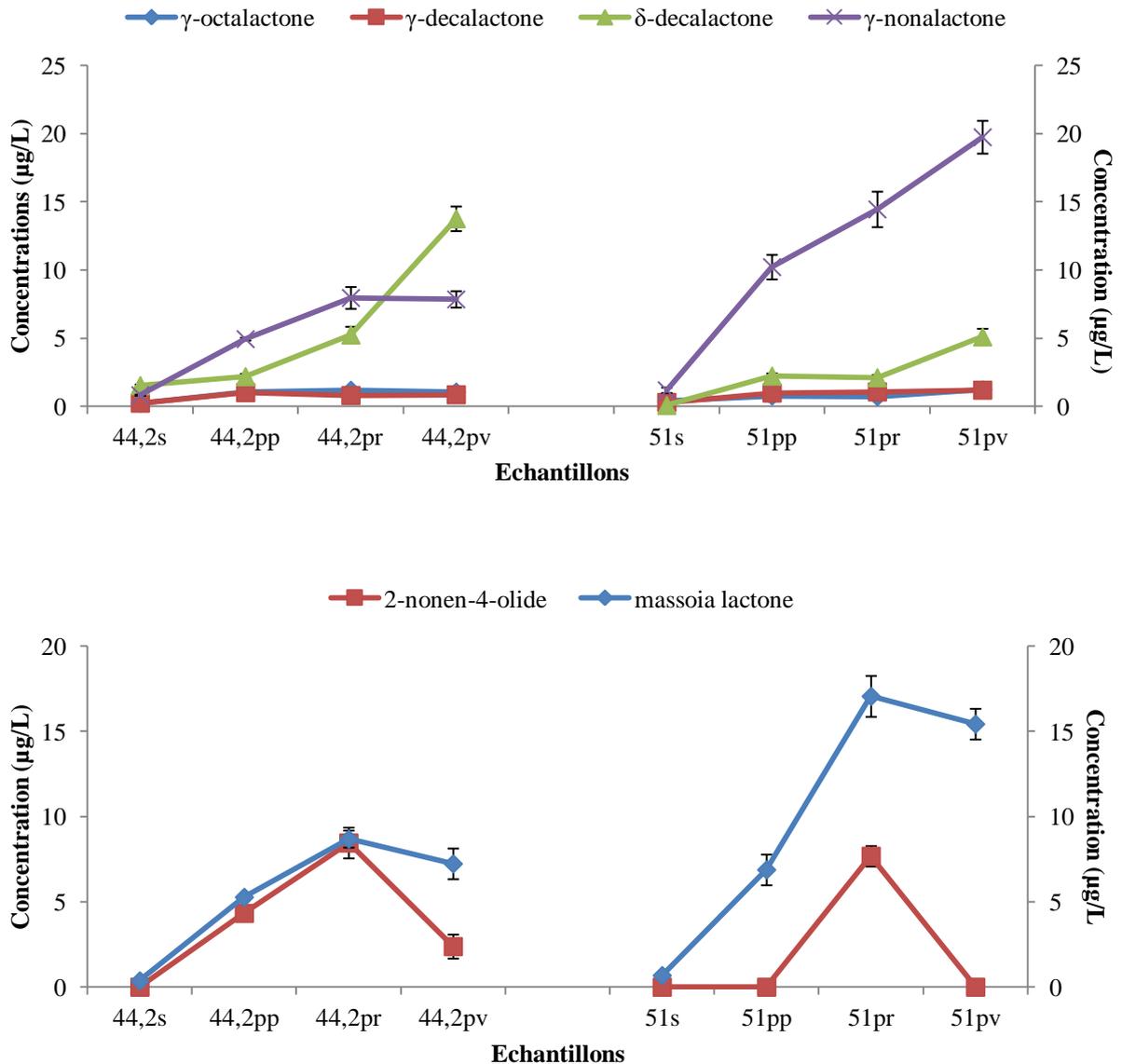


Figure 66 : Evolution des teneurs en lactones dans les jus de raisins des deux parcelles en fonction du stade de botrytisation

Les γ -nonalactone et δ -décalactone présentent, quant-à-elles, des valeurs plus élevées. D'abord, une augmentation est notée selon le stade de botrytisation, puis, une différence marquante est observée dans les teneurs en γ -nonalactone entre les deux parcelles. La parcelle

44.2 présente des concentrations plus élevées en δ -décalactone par rapport à la parcelle 51, tandis que pour la γ -nonalactone une tendance différente est notée. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de Sarrazin (2007), concernant l'incidence du stade de botrytisation sur les teneurs en lactones des jus des raisins.

L'étude a aussi permis de relever des informations importantes concernant le dosage du 2-nonen-4-olide et de la massoia lactone, deux lactones présentant la particularité de posséder une double liaison sur leur hétérocycle. Ainsi, les résultats des quantifications dans les moûts ont montré une évolution différente des teneurs de ces lactones au cours de la botrytisation par rapport à la γ -nonalactone et la δ -décalactone (lactones sans insaturation sur l'hétérocycle). En effet, ces dernières présentent des valeurs plus importantes au stade « pourri vieux », alors que la massoia lactone et le 2-nonen-4-olide sont toujours au pic de leur accumulation au stade « pourri rôti », qui est le stade le plus qualitatif pour l'élaboration des vins liquoreux de pourriture noble (**Figure 66**).

La différence d'évolution de concentration entre le 2-nonen-4-olide, la massoia lactone et la γ -nonalactone, la δ -décalactone respectivement, pourrait être due à un processus de limitation de synthèse de lactones insaturées avec l'évolution du stade du développement de la pourriture noble. Ainsi nous formulons l'hypothèse que la massoia lactone et le 2-nonen-4-olide puissent être considérés comme marqueurs moléculaires pour la qualité de la pourriture noble due à *Botrytis cinerea*.

9.2.2 Analyses des vins

Les expérimentations concernant l'évolution des teneurs en lactones sont poursuivies par l'analyse des vins correspondants et réalisées avec les raisins prélevés aux différents stades de botrytisation. Les résultats des analyses conventionnelles et de quantifications des lactones des vins sont résumés dans les **Tableaux 43 & 44**.

Tableau 43 : Caractéristiques physico chimiques des vins associés à des différents stades de botrytisation

APRES FERMENTATION ALCOOLIQUE									
Parcelle	Stade	Identification	SR	AT	pH	AV	TAV	SO ₂ Libre	SO ₂ Total
44.2	sain	44.2-S	2,8	4,26	3,12	0,31	14,04	3	47
	pourri plein	44.2-PP	46	3,33	3,58	0,88	13,52	9	190
	pourri rôti	44.2-PR	128	3,57	3,94	0,92	13	34	223
	pourri vieux	44.2-PV	125	3,33	3,93	0,8	12,9	40	203
51	sain	51-S	< 2	4,21	3,22	0,25	13,42	5	49
	pourri plein	51-PP	51	3,33	3,75	0,62	12,9	9	193
	pourri rôti	51-PR	102	3,87	4	0,92	13,9	9	166
	pourri vieux	51-PV	128	4.12	3.98	0,84	12,9	35	250

SR : sucres réducteurs (g/L) ; AT : acidité totale (g/L en H₂SO₄); AV : acidité volatile (g/L en H₂SO₄) : TAV : titre alcoométrique volumique (% vol)

Tableau 44 : Quantification des différentes lactones (µg/L) dans les vins en fonction des différents stades de botrytisation

Parcelle	Stade de Botrytisation	identification	γ-octalactone	γ-décalactone	δ-décalactone	γ-nonolactone	massoia lactone	2-nonen-4-olide
44,2	sain	44,2s	1,7 ± 0,9	1,8 ± 0,9	4,4 ± 0,9	6,9 ± 0,2	2,5 ± 0,9	nd
	pourri plein	44,2pp	1,4 ± 0,8	1,8 ± 0,8	2,4 ± 0,9	7,5 ± 0,1	4,6 ± 1,9	nd
	pourri rôti	44,2pr	2,9 ± 0,5	4,1 ± 0,9	3,2 ± 0,6	15,1 ± 0,5	6,6 ± 1,5	1,1 ± 0,1
	pourri vieux	44,2pv	2,7 ± 0,2	4,3 ± 0,2	3,2 ± 0,5	14,9 ± 0,2	6,5 ± 0,8	nd
51	sain	51s	1,7 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	6,1 ± 0,3	1,2 ± 0,1	nd
	pourri plein	51pp	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,3	3,1 ± 0,4	19,2 ± 0,9	5,8 ± 0,8	nd
	pourri rôti	51pr	3,1 ± 0,1	3,1 ± 0,3	3,9 ± 0,3	31,2 ± 1,2	19,4 ± 2,3	tr
	pourri vieux	51pv	2,6 ± 0,1	3,7 ± 0,7	3,5 ± 0,1	31,8 ± 0,8	5,9 ± 1,3	nd

La teneur en γ -nonalactone augmente dans les raisins au cours du développement de *Botrytis cinerea*. Dans les moûts de la parcelle 51 (peyrosol), on passe de 1,18 $\mu\text{g/L}$ à 19,73 $\mu\text{g/L}$. Pour les vins, la progression est plus importante depuis la teneur au stade « raisin sain » avec une valeur de 6,10 $\mu\text{g/L}$ jusqu'au stade « pourri rôti » avec une valeur de 31,2 $\mu\text{g/L}$. Alors que les valeurs continuent leur accroissement dans le moût, il semble que dans le vin, le maximum soit atteint au stade pourri rôti, et que la tendance soit à la baisse pour le stade suivant.

Les mêmes constatations ont été faites pour la parcelle 44.2 (calcosol), mais avec des valeurs moins élevées. Dans le moût, on passe pour la γ -nonalactone de concentrations situées à 0,83 $\mu\text{g/L}$ jusqu'à 7,96 $\mu\text{g/L}$, avec une stagnation des teneurs pour les 2 derniers stades. Cela pourrait s'expliquer par un prélèvement précipité des raisins. Dans le vin, on passe de teneurs situées à 6,89 $\mu\text{g/L}$ jusqu'à 15,11 $\mu\text{g/L}$ puis l'on observe une légère baisse des concentrations.

Il y a bien un effet du développement du champignon vis à vis de l'augmentation des teneurs en γ -nonalactone. L'augmentation que l'on note entre le moût et le vin nous indique également que la fermentation alcoolique intervient dans la formation du composé. Les levures paraissent donc posséder l'enzyme qui catalyse la réaction de lactonisation à partir d'un précurseur présent dans le moût. Il y a également un effet terroir puisque l'on observe une teneur en γ -nonalactone plus élevée sur le peyrosol. Ce sol est beaucoup plus drainant du fait de sa composition en sable et en cailloux et, pour les mêmes raisons, il conserve plus la chaleur. On peut donc supposer que en 2012, une alimentation hydrique plus faible et une température plus élevée ont favorisé l'augmentation de la teneur en γ -nonalactone. Le même effet a été constaté pour les γ -octalactone et γ -décalactone.

Au contraire de l'évolution des γ -lactones, les lactones comme la δ -décalactone, la massoia lactone et le 2-nonen-4-olide, voient leurs concentrations diminuer après la fermentation alcoolique. Les expérimentations montrent une diminution des teneurs en δ -décalactone entre les moûts et les vins, surtout aux stades « pourri rôti » et « pourri vieux ». La même tendance a été montrée dans le cas de la massoia lactone, à l'exception d'une valeur sur la parcelle 51 correspondant au vin issu du stade « pourri rôti ».

L'analyse chromatographique du 2-nonen-4-olide dans le moût n'avait pas encore été faite jusqu'ici. Dans cette expérience, le 2-nonen-4-olide est détecté dès le stade pourri plein dans

la parcelle 44.2 en concentration non négligeable (4,34 µg/L). Un niveau maximum de 8,46 µg/L est atteint au stade « pourri rôti », puis les concentrations chutent. La même tendance s'observe pour la parcelle 51, mais avec des valeurs plus faibles. Présent à l'état de trace au stade « pourri plein », la concentration du 2-nonen-4-olide augmente fortement pour atteindre 7,69 µg/L au stade « pourri rôti », puis chute brutalement. Dans le vin de la parcelle 51, le 2-nonen-4-olide est détecté uniquement au stade pourri rôti à l'état de trace. Pour la parcelle 44.2, le composé apparaît au stade « pourri rôti » en concentration beaucoup moins importante (1,1 ±0,1 µg/L) puis tend à disparaître au stade suivant. On peut donc parler d'un effet terroir puisque l'accumulation est plus intense sur les calcosols. Dans tous les cas, cette évolution conduit à envisager que le 2-nonen-4-olide soit un marqueur du stade « pourri-rôti » puisque c'est à ce stade que les teneurs maximales sont atteintes, sur les deux sols. La chute des concentrations entre le moût et le vin indique que la fermentation alcoolique n'intervient pas dans la formation des molécules de la même façon que pour les γ -lactones.

9.3 EVOLUTION DES CONCENTRATIONS EN 2-NONEN-4-OLIDE AU COURS DE L'ELEVAGE DES VINS

9.3.1 Protocole expérimental

Pour mieux comprendre le comportement du 2-nonen-4-olide au cours de l'élaboration du vin, un suivi des concentrations de cette lactone a été effectué au cours de l'élevage des différents vins liquoreux du millésime 2011. Le point de départ se situe lors du mutage à la fermentation alcoolique. Ensuite, des quantifications de la lactone ont été réalisées à différentes périodes.

Pour cette expérimentation, trois ensembles de vins de Sémillon ont été utilisés, qui sont récoltés et vinifiés de manière identique. Les caractéristiques des vins issus des différents lots sont détaillées dans le **Tableau 45**.

Tableau 45 : Caractéristiques physico-chimiques des vins issus de différents lots

Echantillons	TAV	SR	AT	pH	AV	Date de Récolte	CEPAGE
LOT 18 Bq	13,35	155	3,9	3,80	0,81	26/09/2011	SEMILLON
LOT 18 Inox	13,55	150	3,8	3,80	0,65	26/09/2011	SEMILLON
LOT 21	13,80	135	3,6	3,83	0,76	27/09/2011	SEMILLON
LOT 24	13,90	125	3,5	3,88	0,71	28/09/2011	SEMILLON

SR : sucres réducteurs (g/L) ; AT : acidité totale (g/L en H₂SO₄); AV : acidité volatile (g/L en H₂SO₄) ; TAV : titre alcoométrique volumique (% vol)

Les ensembles (lots) 21 et 24 ont été fermentés en barriques de chêne neuves puis ont été soutirées en fin de fermentation alcoolique et élevées dans les mêmes barriques. L'ensemble 18 a été divisé avant fermentation entre barriques et fûts en acier inoxydable de 50 litres.

9.3.2 Evolution des concentrations en 2-nonen-4-olide au cours d'élevage

L'évolution des teneurs en 2-nonen-4-olide au cours de l'élevage est mesurée pendant une période de 18 mois dans un chai de vieillissement et des conditions environnementales stables (température et taux d'humidité) (**Figure 67**). La quantification de la lactone montre une différence dans les concentrations en 2-nonen-4-olide en fonction des différents lots qui se maintient pendant tout l'élevage.

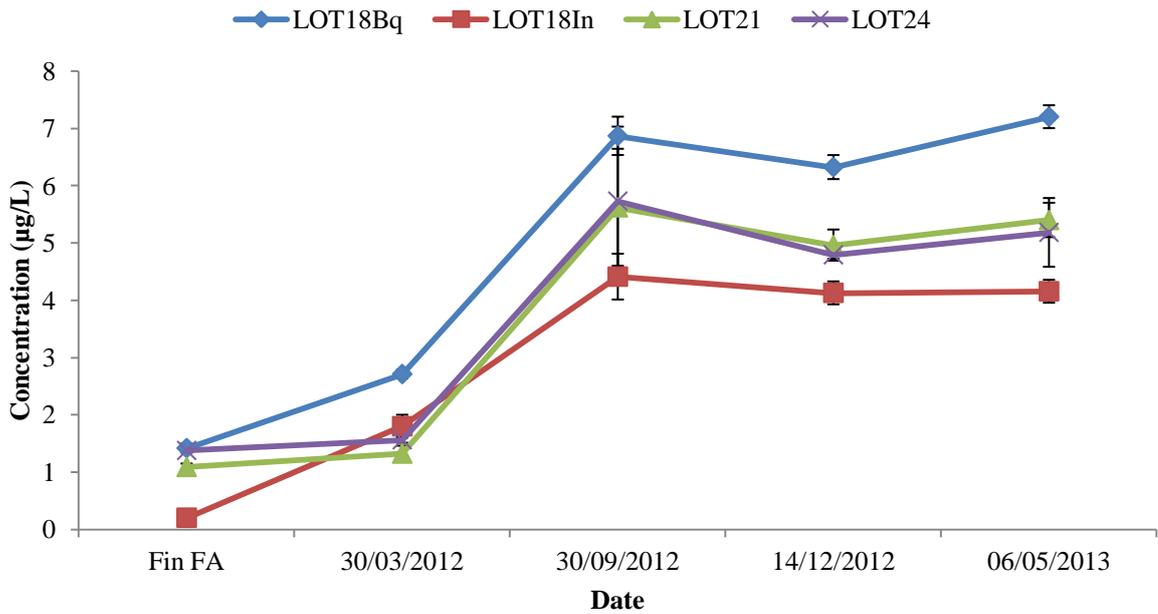


Figure 67 : Evolution de la teneur en 2-nonen-4-olide des vins de Sémillon (millésime 2011) au cours de l'élevage en barriques.

Plus particulièrement, une différence distincte existe entre les échantillons lot 18 barrique et lot 18inox. L'évolution des teneurs en 2-nonen-4-olide est différente avec des teneurs plus élevées pour le lot 18 élevé barrique. Cela montre l'intérêt de l'utilisation des barriques pour accroître les teneurs de la lactone. A partir de la fin de la fermentation, des différences entre les lots ont été constatées. La teneur maximale en 2-nonen-4-olide pour le lot 18 en barrique est de l'ordre de 7,2 µg/l, alors que le lot 18 en inox est situé à une concentration de 4,4 µg/L. Ensuite, les teneurs en 2-nonen-4-olide pour les lots 21 et 24 évoluent de manière presque identique, avec une teneur maximale à environ 5 µg/L.

Enfin, le suivi des teneurs du 2-nonen-4-olide montre qu'il existe une augmentation significative des teneurs en 2-nonen-4-olide, environ 5 µg/L, au cours de la première année d'élevage. Puis, une stabilisation des concentrations est observée.

9.4 DISCUSSION-CONCLUSION

En accord avec les travaux par Miklósy & Kerényi (2004) et Sarrazin (2007) les travaux de quantification nous ont permis de confirmer le rôle majeur de la botrytisation sur l'évolution des concentrations en lactones dans le moût puis le vin. Cependant, nos observations montrent une évolution qui n'est pas similaire selon la structure moléculaire des lactones, des lactones insaturées voyant leur concentration diminuer avec l'évolution du stade de botrytisation. La formation de lactones résulte de la cyclisation intramoléculaire d'acides hydroxylés. Ces dernières sont formées biologiquement, notamment grâce au métabolisme des acides gras (Dufossé *et al.*, 1994).

Comme *Botrytis cinerea* possède une grande diversité d'enzymes (Donèche, 1987), il est possible que le champignon secrète, en particulier des lipoxygénases, qui oxydent les acides gras de la pellicule pour former les précurseurs de lactones. Ainsi, l'augmentation des lactones dans les moûts issus de raisins au stade « pourri rôti » résulterait directement du métabolisme de *Botrytis cinerea*. D'ailleurs, la présence d'oxo-acides et d'hydroxyacides en plus fortes concentrations dans les moûts et les vins de pourriture noble vient étayer cette hypothèse (Miklósy & Kerényi, 2004 ; Miklósy *et al.*, 2004). De plus, un mécanisme de formation du 2-nonen-4-olide a été proposé par Tressl *et al.* (1993) dans le cas du concombre. Il a montré que la dégradation de l'acide linoléique par des lipoxygénases permettait la formation de l'acide 9-hydroperoxyoctadecadiénoïque (9-HPODE) qui pouvait par la suite subir des réactions permettant la formation du 2-nonen-4-olide (**Figure 68**). Ainsi, notre composé proviendrait de l'acide linoléique de la pellicule. De plus, de précédentes études sur la bière (Tressl *et al.*, 1978) ont mis en évidence la formation de l'acide 4-oxo-nonanoïque au cours de l'étape de maltage. Ce composé formant, sous l'action des levures, l'acide 4-hydroxy nonanoïque, lui-même à l'origine de la γ -nonalactone par réaction de lactonisation (estérification cyclique en milieu acide). Par analogie, ces résultats nous permettent donc de supposer l'existence de l'acide 4-oxo-2-nonénoïque au sein du raisin, ce composé pouvant être, de la même manière, à l'origine de l'acide 4-hydroxy-2-nonénoïque puis du 2-nonen-4-olide après lactonisation. Cette hypothèse fait donc de l'acide 4-oxo-2-nonénoïque, l'un des précurseurs possibles du 2-nonen-4-olide dans le raisin (**Figure 69**). Des recherches ultérieures devront toutefois être réalisées afin d'en confirmer ou d'en infirmer la présence.

Dans le cas du 2-nonen-4-olide, de la δ -décylactone et éventuellement de la massoia lactone, un comportement différent au cours de la fermentation alcoolique a été établi. Ce comportement des lactones au cours de la fermentation alcoolique devra faire l'objet d'une étude ultérieure. Par contre, la genèse du 2-nonen-4-olide est démontrée au cours de l'élevage. Les mécanismes de dégradation, mais également de formation des lactones, représentent à l'évidence des pistes de recherche à explorer. Enfin, la différence entre les parcelles montre l'intérêt des conditions pédoclimatiques sur les concentrations en lactones.

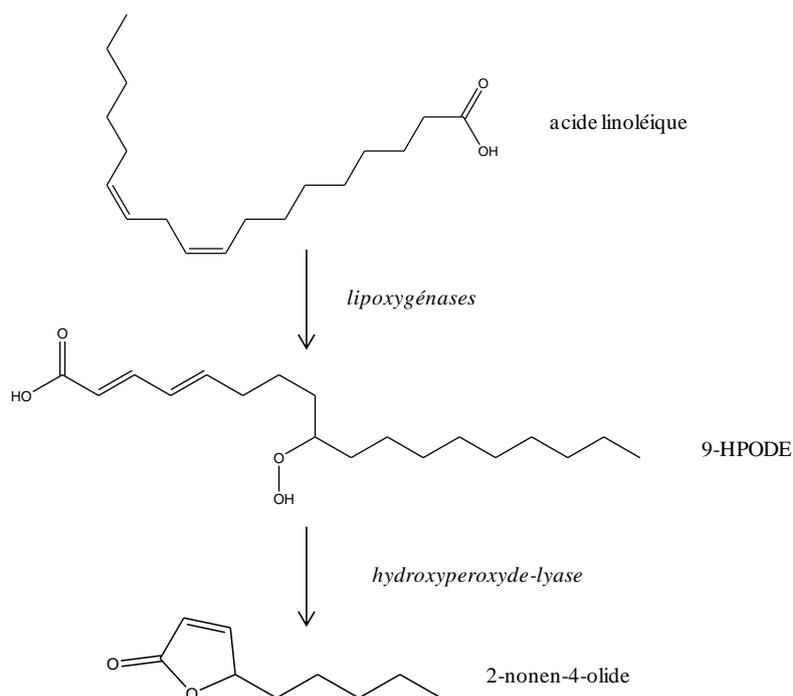


Figure 68 : Mécanisme de formation du 2-nonen-4-olide à partir de l'acide linoléique dans les cellules de concombre (Tressl *et al.*, 1993)

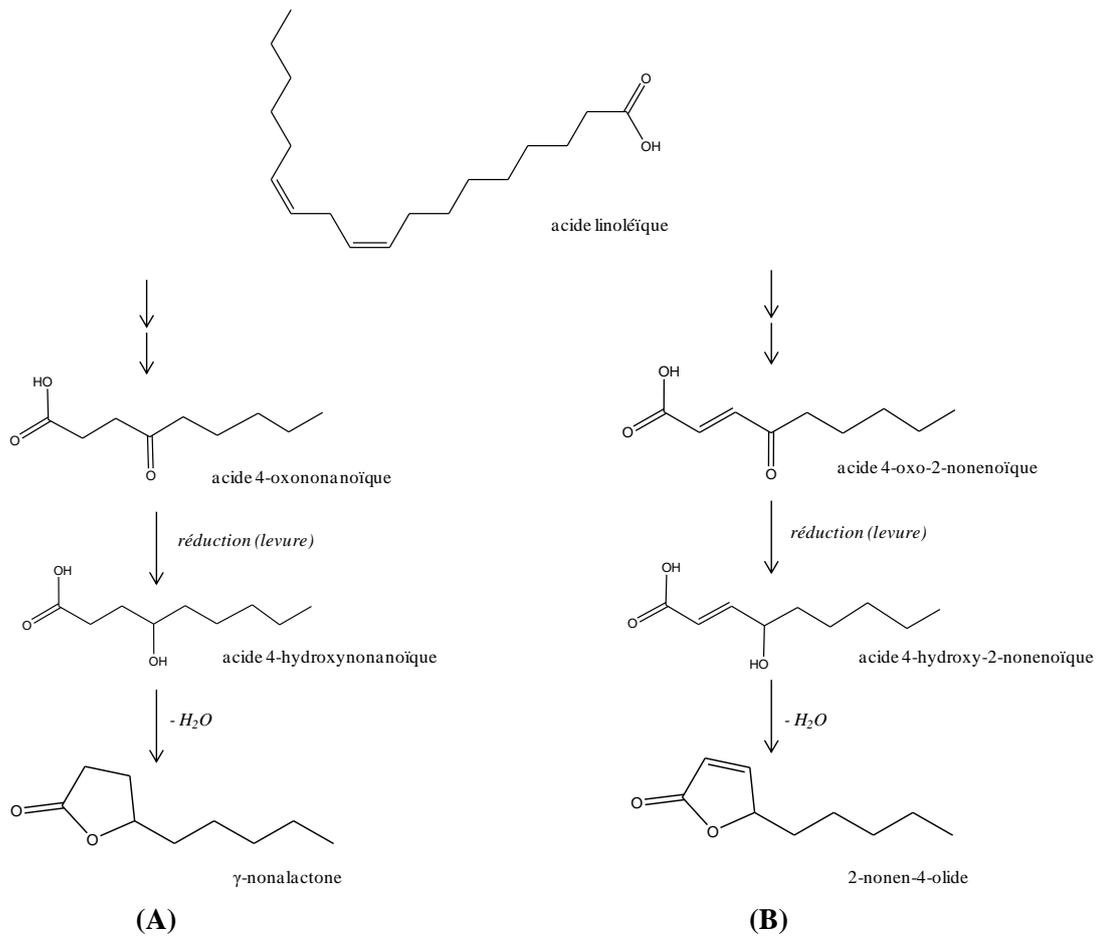


Figure 69 : (A) Voie de formation de la γ -nonalactone dans la bière (Tressl *et al.*, 1978).
 (B) voie hypothétique de formation du 2-nonen-4-olide dans le vin.

10 CONCLUSION GENERALE

Nos travaux se situent en continuité de ceux de Sarrazin (2007) qui avait mis en évidence l'existence d'un espace sensoriel propre aux vins liquoreux de Bordeaux, identifié et dosé des composants d'intérêt dans l'arôme de ces vins. Cependant, ses travaux n'avaient pas pu aboutir dans l'interprétation des nuances aromatiques des fruits confits, en particulier d'orange confite. Lorsque ces travaux ont été repris, il nous a semblé évident que la perception de ces notes aromatiques paraissait associée à une combinaison de molécules au niveau du système olfactif des dégustateurs, au travers de phénomènes d'interactions perceptives impliquant des composés connus ou à identifier.

Dans un premier temps, nos travaux utilisant la technique de reconstitution aromatique après fractionnement CLHP ont permis de mettre en évidence l'importance de fractions notées 37 et 38, dans la composante aromatique de fruits confits. Ces fractions semblent être très importantes dans l'arôme des vins de pourriture noble. Elles ne présentent pas la même tonalité aromatique dans les vins blancs secs des mêmes cépages. En supprimant ces fractions de la reconstitution aromatique associant l'ensemble des fractions, l'arôme perçu change de façon significative.

Dans un second temps, l'analyse des extraits organiques des fractions 37 et 38 par CPG-olfactométrie a permis de souligner la présence de certaines zones odorantes d'intérêt, dont l'une rappelle clairement des notes d'orange confite. Cette zone odorante n'est pas présente dans les extraits de vins blancs secs. Le développement au laboratoire de la technique de CPG préparative a permis d'isoler, après séparation chromatographique, les composés volatils associés à la zone odorante d'orange confite, afin d'étudier leur contribution sensorielle. Concrètement, en piégeant sélectivement, par voie cryogénique, les composés élués de la colonne chromatographique au temps de rétention de la zone odorante, une odeur caractéristique d'orange confite est perçue. Ensuite, des tests sensoriels d'omission ont été développés pour confirmer l'impact des composés volatils associés à cette zone odorante dans des extraits de fraction 37 et 38, ou dans un extrait brut de vin. Ainsi, l'impact majeur de composés associés à des notes d'« orange confite », isolés sélectivement à partir d'extraits de vins a été démontré.

Les composés associés à cette zone odorante semblant être des composés « clés » pour la perception de l'arôme des vins, leur caractérisation a été envisagée dans un troisième temps par la technique de chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle couplée à

l'olfactométrie et à la spectrométrie de masse, déjà utilisée au sein du laboratoire pour identifier des composés à l'état de traces.

Ainsi il a été possible d'identifier associé à la zone odorante de fruits confits, le 3-méthyl-4-octanolide (whisky lactone), l'eugénol, la γ -nonalactone et de souligner en particulier la présence d'un composé inconnu présentant une odeur fruitée-mentholée. L'obtention du spectre de masse du composé en vue de son identification, a été possible par analyse des extraits en couplage de CPG-bidimensionnelle couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution. Il s'agit de la molécule 2-nonen-4-olide qui fait partie de la famille chimique des lactones. Ce composé bien détecté dans certains vins liquoreux de pourriture noble ne l'est pas dans des extraits de vins blancs secs. Après avoir développé et validé une méthode de quantification de cette molécule, son dosage a été effectué dans différents vins et son seuil de détection olfactive déterminé à une valeur de 4,3 $\mu\text{g/L}$ en solution hydroalcoolique (pH 3,5). Des concentrations situées entre 2 $\mu\text{g/L}$ et 18 $\mu\text{g/L}$ ont été mesurées pour cette lactone dans des vins liquoreux de pourriture noble. A l'exception de la « wine lactone », cette molécule présente un seuil de détection olfactive parmi les plus bas déterminés pour une lactone du vin. Notons que la molécule possède un carbone asymétrique et le seuil de perception pourrait changer selon la forme énantiomère. En outre, cette molécule semble bien spécifique des vins liquoreux de pourriture noble dans la mesure où elle n'est pas détectée dans les vins secs de différents cépages.

Nous avons acquis la conviction que l'ensemble des composés volatils associés à la zone odorante de fruits confits jouait un rôle déterminant dans les tonalités orangées des fractions 37-38, au travers d'un phénomène d'interactions perceptives, associant en particulier le 2-nonen-4-olide et les composés évoqués précédemment [3-méthyl-4-octanolide (noix de coco), eugénol (épice, clou de girofle), γ -nonalactone(fruité)]. Aussi, des expériences sensorielles de reconstitution et des tests d'omission ont été mis en place pour étudier, à partir de fractions d'extraits de vins liquoreux, la contribution des composés identifiés. Les résultats des analyses sensorielles ont clairement montré un effet direct du 3-méthyl-4-octanolide, du 2-nonen-4-olide et dans une moindre mesure de l'eugénol, dans l'intensité de la perception de notes d'orange confite dans les reconstitutions aromatiques. Le niveau de typicité des mélanges impliquant ces composés est aussi accru. Dans le cas des analyses sensorielles en solution simple (solution hydroalcoolique à pH 3,5) avec les produits purs, la même tendance est constatée.

Ainsi, par ces travaux un phénomène d'accord aromatique, bien connu en parfumerie, est établi pour la première fois en œnologie, impliquant le 3-méthyl-4-octanolide, le 2-nonen-4-olide et dans une moindre mesure l'eugénol et la γ -nonalactone. Ce phénomène résulte d'une perception « synthétique », dans laquelle une tonalité aromatique différente de celle de chacun des composés volatils pris séparément est perçue. La perception « synthétique » s'oppose à la perception « analytique » avec laquelle chacun des composants du mélange est perçu ou un mode de perception « synthétique partielle » qui constitue un niveau intermédiaire. Dans notre cas, l'accord aromatique est permis par des composés provenant à la fois du bois de chêne et associés à la botrytisation. Ces travaux rejoignent des études préalables qui avaient noté le rôle de composés du bois dans l'accroissement du caractère fruité des vins rouges (Spillman *et al.*, 2004) et des vins liquoreux (Sarrazin *et al.*, 2008). Par ailleurs, les propriétés du 2-nonen-4-olide ont été évoquées par plusieurs auteurs intéressés par son usage en parfumerie (Kindel *et al.*, 2007). Il est aussi intéressant de faire le lien entre ces travaux et les observations du parfumeur Jean Claude Ellena, notant que le mélange d'un composé rappelant la noix de coco avec un composé rappelant la menthe conduit à la perception d'une odeur de figue (Le Temps, 26/09/2007). En outre, l'ajout en solution simple à certains des composés évoqués précédemment (3-méthyl-4-octanolide (noix de coco), eugénol (épicé, clou de girofle)] du 3-sulfanylhexanol (note de pamplemousse), dont la contribution à l'arôme des vins liquoreux a été établie par Sarrazin (2007, 2007b) permet de renforcer le niveau d'intensité de notes de fruits confits et d'orange notées par le panel.

Finalement ces travaux contribuent à ouvrir un nouveau champ de la compréhension de l'arôme des vins, tel qu'initié en œnologie par Ribéreau-Gayon *et al.* (1975) concernant l'impact sensoriel de mélanges de monoterpènes. Ces travaux ont été prolongés plus récemment au sein de l'unité de recherche Œnologie dans le cadre de l'étude de phénomènes d'interactions perceptives impliquant certains esters éthyliques d'acides gras et acétates d'alcools supérieurs conduisant en mélange à accroître l'intensité de leur arôme (Pineau *et al.*, 2009 ; Lytra *et al.* 2012b, 2013). Ainsi, pour mieux comprendre la composante aromatique des vins, il est nécessaire de considérer les phénomènes d'interactions olfactives associés aux composés mélanges complexes qui peuvent être à l'origine d'images sensorielles plus intenses et plus complexes que celles dues aux composés pris isolément.

Dans la dernière partie de la thèse, une recherche plus appliquée a été mise en place. D'abord, les liens entre le niveau d'appréciation de la qualité aromatique et de la typicité de

grands vins liquoreux de Bordeaux, et la mesure quantitative des composés identifiés ainsi que d'autres composés associés à l'arôme des vins liquoreux ont été recherchés. Il ressort, de cette étude une bonne corrélation entre le niveau de typicité des vins et les notes aromatiques de « fruits confits ». Ensuite, la construction par analyse en composante principale, relie favorablement le contenu en 2-nonen-4-olide, en 3-méthyl-4-octanolide et eugénol, un peu moins les teneurs en γ -nonalactone et 3-sulfanylhéxanol, avec le niveau de typicité des vins et l'appréciation des notes de « fruits confits ».

Des travaux préliminaires concernant l'impact de la botrytisation dans la genèse des lactones dans les vins liquoreux de pourriture noble, en particulier le 2-nonen-4-olide, la massoia lactone, la γ -nonalactone a été étudiée au cours d'un millésime permet d'indiquer des cinétiques de formation des composés au cours de la botrytisation puis le 2-nonen-4-olide au cours de l'élevage des vins. Ces travaux confortent l'importance de l'étude des lactones comme marqueurs de la qualité aromatique des vins liquoreux de pourriture noble et renvoient pour l'avenir à l'intérêt d'une meilleure appréciation du rôle majeur de la botrytisation dans l'évolution de ces composés pour des conditions pédoclimatiques distinctes.

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abe, S., (1937). Massoia Oil. *J. Chem. Soc. Japan*, (58), 246.
- Acree, T. E., Barnard, J., & Cunningham, D. G. (1984). A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chemistry*, 14(4), 273-286.
- Agenbach, W.A. (1977). A study of must nitrogen content in relation to incomplete fermentations, yeast production and fermentation activity. in Stellenbosh S.A. (ed.), *Proceedings of South African Society for Enology and Viticulture*. Cape Town. pp. 66–87.
- Aleixandre, J. L., Lizama, V., Alvarez, I., & García, M. J. (2002). Varietal differentiation of red wines in the valencian region (Spain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 751-755.
- Analyse sensorielle. (2007). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR
- Analyse sensorielle. Appareillage. Verre à dégustation pour l'analyse sensorielle des vins. ISO 3591(1977). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR
- Analyse sensorielle-Directives générales pour la conception de locaux destinés à l'analyse. NF EN ISO 8589 (2010). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR
- Analyse sensorielle-Méthodologie-Essai triangulaire. NF EN ISO 4120 (2007). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR
- Analyse sensorielle-Méthodologie-Lignes directrices générales pour la mesure des seuils de détection d'odeur, de flaveur et de goût par une technique à choix forcé de 1 parmi 3 (3-AFC). ISO 13301 (2002). In *Analyse sensorielle*. Paris : AFNOR
- 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., Kotseridis, Y., & Bertrand, A. (1996). Determination of the content of dimethyl sulphide in some red wines. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 30(3), 167-170.

Appell, L. (1969). Physical foundations in perfumery. VIII. The minimum perceptible. *Am. Perfum. Cosmet.* (84), 45-50.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etiévant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: Odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, 30(3), 209-217.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 476-482.

Augris, A. (1994). Caractérisation sensorielle de l'appellation Morgon. *Revue des Œnologues*, 72: 39-41.

Bailly, S., Jerkovic, V., Meurée, A., Timmermans, A., & Collin, S. (2009). Fate of key odorants in Sauternes wines through aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8557-8563.

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 and Universitat Politècnica de València, Dijon.

Ballester, J., Dacremont, C., Le Fur, Y., & Etiévant, P. (2005). The role of olfaction in the elaboration and use of the Chardonnay wine concept. *Food Quality and Preference*, 16(4), 351-359.

Barbe, J. C., De Revel, G., Joyeux, A., Lonvaud-Funel, A., & Bertrand, A. (2000). Role of carbonyl compounds in SO₂ binding phenomena in musts and wines from botrytized grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3413-3419.

Barbe, J. C., Pineau, B., & Silva Ferreira, A. C. (2008). Instrumental and sensory approaches for the characterization of compounds responsible for wine aroma. *Chemistry and Biodiversity*, 5(6), 1170-1183.

Barkat, S., Le Berre, E., Coureaud, G., Sicard, G., & Thomas-Danguin, T. (2012). Perceptual blending in odor mixtures depends on the nature of odorants and human olfactory expertise. *Chemical Senses*, 37(2), 159-166.

Bate-Smith, E. C. (1954). Astrigency in foods. *Food*, 23, 419-429.

Baudouin, P. (2003). AOC : originalité ou typicité ? *Revue des Œnologues*, 108: 5-6.

Beaulieu, J. C., & Lea, J. M. (2006). Characterization and semiquantitative analysis of volatiles in seedless watermelon varieties using solid-phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7789-7793.

Béguin, P., & Costermans, J. (1994). Le traitement de l'information olfactive. *L'Année Psychologique*, 94, 99-122.

Bely, M., Masneuf-Pomarède, I., & Dubourdieu, D. (2005). Influence of physiological state of inoculum on volatile acidity production by *saccharomyces cerevisiae* during high sugar fermentation. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 39(4), 191-197.

Bely, M., Rinaldi, A., & Dubourdieu, D. (2003). Influence of assimilable nitrogen on volatile acidity production by *Saccharomyces cerevisiae* during high sugar fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(6), 507-512.

Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf-Pomarède, I., & Dubourdieu, D. (2008). Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii* - *Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 122(3), 312-320.

Berglund, B., & Olsson, M. J. (1993). Odor-intensity interaction in binary and ternary mixtures. *Perception & Psychophysics*, 53(5), 475-482.

Berglund, B., Berglund, U., & Lindvall, T. (1976). Psychological processing of odor mixtures. *Psychological Review*, 83(6), 432-441.

Bernreuther, A., Christoph, N., & Schreier, P. (1989). Determination of the enantiomeric composition of γ -lactones in complex natural matrices using multidimensional capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 481(C), 363-367.

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 de Bordeaux 2.

Blanchard, L., Darriet, P., & Dubourdiou, D. (2004). Reactivity of 3-mercaptohexanol in red wine: Impact of oxygen, phenolic fractions, and sulfur dioxide. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(2), 115-120.

Blank I. In: Marsili R, editor. Techniques for Analyzing Food Aroma. New York: Marcel Dekker, 1997:293–329.

Blank, I., Fischer, K. H., & Grosch, W. (1989). Intensive neutral odorants of linden honey differences from honeys of other botanical origin. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 189(5), 426-433.

Bouchilloux, P., Darriet, P., Henry, R., Lavigne-Cruège, V., & Dubourdiou, D. (1998). Identification of volatile and powerful odorous thiols in Bordeaux red wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 3095-3099.

Buettner, A. (2004). Investigation of potent odorants and after odor development in two Chardonnay wines using the buccal odor screening system (BOSS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8), 2339-2346.

Bult, J. H. F., Schifferstein, H. N. J., Roozen, J. P., Boronat, E. D., Voragen, A. G. J., & Kroeze, J. H. A. (2002). Sensory evaluation of character impact components in an apple model mixture. *Chemical Senses*, 27(6), 485-494.

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

Cain, W. S., Schiet, F. T., Olsson, M. J., & De Wijk, R. A. (1995). Comparison of models of odor interaction. *Chemical Senses*, 20(6), 625-637.

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

Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., & Cacho, J. (2005). Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic-headspace gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5682-5690.

Capone, D. L., Sefton, M. A., Yoji, H., & Jeffery, D. W. (2010). Analysis of precursors to wine odorant 3-mercaptohexan-1-ol using HPLC-MS/MS: Resolution and quantitation of diastereomers of 3-S-cysteinylhexan-1-ol and 3-S-glutathionylhexan-1-ol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), 1390-1395.

Cerny, C., & Grosch, W. (1992). Evaluation of potent odorants in roasted beef by aroma extract dilution analysis. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 194(4), 322-325.

Chatonnet, P. (1995). Incidences du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins: applications technologiques. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Chisholm, M. G., Guiher, L. A., Vonah, T. M. & Beaumont, J. L. (1994). Comparison of some French-American hybrid wines with white Riesling using gas chromatography olfactometry. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(2): 201-212.

Christlbauer, M., & Schieberle, P. (2009). Characterization of the key aroma compounds in beef and pork vegetable gravies á la chef by application of the aroma extract dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 9114-9122.

Cometto-Muñiz, J. E., & Abraham, M. H. (2008). Human olfactory detection of homologous n-alcohols measured via concentration-response functions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 89(3), 279-291.

Cooke, R. C., Capone, D. L., Van Leeuwen, K. A., Elsey, G. M., & Seeton, M. A. (2009b). Quantification of several 4-alkyl substituted γ -lactones in Australian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 348-352.

Cooke, R. C., Van Leeuwen, K. A., Capone, D. L., Gawel, R., Elsey, G. M., & Sefton, M. A. (2009a). Odor detection thresholds and enantiomeric distributions of several 4-alkyl substituted γ -lactones in Australian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2462-2467.

Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876-881.

Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., & 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(6), 1653-1660.

Culleré, L., Ferreira, V., & Cacho, J. (2011). Analysis, occurrence and potential sensory significance of aliphatic aldehydes in white wines. *Food Chemistry*, 127(3), 1397-1403.

Currie, L. A., Eglinton, T. I., Benner Jr., B. A., & Pearson, A. (1997). Radiocarbon "dating" of individual chemical compounds in atmospheric aerosol: First results comparing direct isotopic and multivariate statistical apportionment of specific polycyclic aromatic hydrocarbons. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 123(1-4), 475-486.

Cutzach, I., Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1998). Étude sur l'arôme des vins doux naturels non Muscatés 1 ère partie : Analyse qualitative de l'arôme des Banyuls et Rivesaltes au cours de leur vieillissement. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 32(2), 99-110.

Dai, Y.-F, Tian, H.-Y, Sun, B.-G, Sun, Y.-G, Chen, H.-T, & Liu, X.-L (2012). Efficient synthesis of the odourant, 2-nonen-4-olide. *Journal of Chemical Research*, 36(8), 495-496.

Darriet, P. (1993). L'arôme et les précurseurs d'arôme du Sauvignon. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Darriet, P., Lavigne, V., Boidron, J.-N. et Dubourdieu, D. (1991). Caractérisation de l'arome variétal des vins de Sauvignon par couplage chromatographie en phase gazeuse olfactométrie. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 25(3), 167-174.

Darriet, P., Thibon, C. and Dubourdieu, D. (2012), Aroma and aroma precursors in grape berry. In *the Biochemistry of the Berry*; Gerós, H., et al. (Eds); Bentham e books, e-book, pp.111-136.

Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J. N., & Dubourdieu, D. (1995). Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var Sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(6), 385-392.

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

Donèche, B. (1986). La nature des exsudats de raisins et leur rôle dans la germination des conidies de *Botrytis cinerea*. *Agronomie*, 6 (1), 67-73.

Donèche, B. (1987). Etude biochimique de la relation hôte-parasite dans le cas du raisin et de *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Donèche, B., & Pucneau-Plante, B. (1986). Influence de divers facteurs sur le développement de *Botrytis cinerea* en milieu synthétique : définition d'un cycle conidien. *Vitis*, 25, 21-30.

Drawert F, Christoph N. In: Schreier P, editor. Analysis of volatiles. Methods and applications. Berlin: Walter de Gruyter, 1984:269–91.

Dubernet, M., Ribereau-Gayon, P., Lerner, H. R., Harel, E., & Mayer, A. M. (1977). Purification and properties of laccase from *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry*, 16(2), 191-193.

Dubourdieu D. 2007. Valeur et typicité des vins de Bordeaux sur le marché mondial. Actes de la 8ième journée technique du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux pp 27-28.

Dubourdieu, D. (1982). Recherches sur les polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. Thèse de Doctorat ; Université Bordeaux 2.

Dubourdieu, D. (1999). La vinification des vins liquoreux de pourriture noble. *Revue Française d'Œnologie*, 176, 32-35.

Dubourdieu, D., & Ribéreau-Gayon, P. (1985). Mise en évidence d'une activité estérase chez *Botrytis cinerea*. *Bulletin de l'OIV*, 648-649.

Dufossé, L., Latrasse, A., & Spinnler, H. E. (1994). Importance des lactones dans les arômes alimentaires : structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. *Science des Aliments*, 17, 17-50.

Dufour, C., & Bayonove, C. L. (1999). 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.

Duhail, C. (1999). La Pourriture du Raisin. Facteurs de sélection des microorganismes dominants et incidences œnologiques. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Eglinton, T. I., Aluwihare, L. I., Bauer, J. E., Druffel, E. R. M., & McNichol, A. P. (1996). Gas chromatographic isolation of individual compounds from complex matrices for radiocarbon dating. *Analytical Chemistry*, 68(5), 904-912.

Ellena Jean-Claude. Interview dans le magazine LeTemps. Juin 2007

Engel, K. H., Flath, R. A., Buttery, R. G., Mon, T. R., Ramming, D. W., & Teranishi, R. (1988). Investigation of volatile constituents in nectarines. 1. analytical and sensory characterization of aroma components in some nectarine cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(3), 549-553.

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

Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501-4510.

Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516-3524.

Escudero, A., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2000). Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4268-4272

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

Etiévant, P. X., Callement, G., Langlois, D., Issanchous, S. & Coquibus, N. (1999). Odour intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(3): 1673-1680.

Etiévant, P.X., Issanchou, S. N., & Bayonove, C.L. (1983). The flavor of Muscat wine: The sensory contribution of some volatile compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 497-504

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(1), 230-236.

Fedrizzi, B., Pardon, K. H., Sefton, M. A., Elsey, G. M., & Jeffery, D. W. (2009). First identification of 4-S-glutathionyl-4-methylpentan-2-one, a potential precursor of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one, in Sauvignon blanc juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3), 991-995.

Ferreira, V., Aznar, M., López, R., & 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 aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4818-4824.

Ferreira, V., Culleré, L., López, R., & Cacho, J. (2004). Determination of important odor-active aldehydes of wine through gas chromatography-mass spectrometry of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge used for selective isolation. *Journal of Chromatography A*, 1028(2), 339-345.

Ferreira, V., Escudero, A., Lopez, R., & Cacho, J. (1998). Analytical characterization of the flavor of oxygen-spoiled wines through the gas chromatography-ion-trap mass spectrometry of ultratrace odorants: Optimization of conditions. *Journal of Chromatographic Science*, 36(7), 331-339.

Ferreira, V., Hernández-Orte, P., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (1999). Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 864(1), 77-88.

Ferreira, V., Jarauta, I., Ortega, L., & Cacho, J. (2004). Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients: Application to the determination of aliphatic lactones in wine. *Journal of Chromatography A*, 1025(2), 147-156.

Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002a). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048-4054.

Ferreira, V., Petka, J., & Aznar, M. (2002b). Aroma extract dilution analysis. Precision and optimal experimental design. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1508-1514.

Frank, D. C., Owen, C. M., & Patterson, J. (2004). Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 37(2), 139-154.

Fretz, C. B., Luisier, J. L., Tominaga, T., & Amadò, R. (2005). 3-Mercaptohexanol: An aroma impact compound of Petite Arvine wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(4), 407-410.

Fretz, C., Känel, S., Luisier, J. L., & Amadò, R. (2005). Analysis of volatile components of Petite Arvine wine. *European Food Research and Technology*, 221(3-4), 504-510.

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.

Fuganti, C., Rigoni, R., Zucchi, G., Barbeni, M., Cisero, M., & Villa, M. (1995). On the soybean type-1 lipoxygenase-mediated conversion of linoleic acid into (s) 2-nonen-4-olide. *Biotechnology Letters*, 17(3), 301-304.

Fuller, G. H., Steltenkamp, R., & Tisserand, G. A. (1964). The gas chromatography with human sensor: Perfumer model. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 116, 711-724.

Gatfield, I. L.; Sommer, H. The enzymatic and fermentative production of lactones and their use in natural flavors. In *Recent Developments in Flavor and Fragrance Chemistry*, 3rd International Haarman and Reimer Symposium. Eds R. Hopp and K. Mori, 1993, pp 291-304

Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., & Moio, L. (2007). Sensory properties and aroma compounds of sweet fiano wine. *Food Chemistry*, 103(4), 1228-1236.

Godinot, N. (1999). Contribution à l'étude de la perception olfactive: Qualité des odeurs et mélanges de composés odorants. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard, Lyon.

Greger, V., & Schieberle, P. (2007). Characterization of the key aroma compounds in apricots (*Prunus armeniaca*) by application of the molecular sensory science concept. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5221-5228.

Grosch, W. (1993). Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 4(3), 68-73.

Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, 26(5), 533-545.

Guedes de Pinho, P., & Bertrand, A. (1995). Analytical determination of furaneol (2, 5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone). Application to differentiation of white wines from hybrid and various *Vitis vinifera* cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(1), 181-186.

Guichard, E., Kustermann, A., & Mosandl, A. (1990). Chiral flavour compounds from apricots. Distribution of γ -lactone enantiomers and stereodifferentiation of dihydroactinidiolide using multi-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography*, 498(2), 396-401.

Guillén, M. D., Goicoechea, E., Palencia, G., & Cosmes, N. (2008). Evidence of the formation of light polycyclic aromatic hydrocarbons during the oxidation of edible oils in closed containers at room temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 2028-2033.

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.

Hasselbarth A., Weers M., Averbeck M., Fischer A., Ullrich F. (2007). Better understanding of aroma systems through aroma fractionation and recombination analysis (AFARA). Proceedings of the 8th Wartburg Symposium, pp 176-184.

Jarauta, I., Cacho, J., & Ferreira, V. (2005). Concurrent phenomena contributing to the formation of the aroma of wine during aging in oak wood: An analytical study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4166-4177.

Jarauta, I., Ferreira, V., & Cacho, J. F. (2006). Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Developments of Food Science*, (43)C, 205-208.

Johnson, A. J., Hirson, G. D., & Ebeler, S. E. (2012). Perceptual characterization and analysis of aroma mixtures using gas chromatography recombination-olfactometry. *PLoS ONE*, 7(8)

Jong, S. C.; Birmingham, J. M.(1997). Mushrooms as a source of natural flavor and aroma compounds. Mushroom biology and mushroom products. World Society for Mushrooms Biology and Mushrooms Products. First international meeting proceedings, pp 345-366.

Kepner, R. E., Webb, D. A., Muller, C. J. (1972). Identification of 4-hydroxy-3-methyloctanoic acid gamma-lactone [5-Butyl-4-Methyldihydro-2-(3H)-Furanone] as a volatile component of oak-wood-aged wines of *Vitis vinifera* var. 'Cabernet Sauvignon'. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(1), 103-105.

Kerscher, R., & Grosch, W. (1997). Comparative evaluation of potent odorants of boiled beef by aroma extract dilution and concentration analysis. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 204(1), 3-6.

Kindel, G., Vossing, T., Looft, J., Wohrle, I., Lages, R., & Loges, H. (2007) Novel use of Nonenolide. United States Patent Application Publication. Pub no: US 2007/0297993A1.

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

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., & Baumes, R. (2000). Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 400-406.

Kovats, E. (1958). "Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone". *Helvetica Chimica Acta* 41 (7): 1915–32.

Laing, D. G., & Francis, G. W. (1989). The capacity of humans to identify odors in mixtures. *Physiology and Behavior*, 46(5), 809-814.

Laing, D. G., Panhuber, H., Willcox, M. E., & Pittman, E. A. (1984). Quality and intensity of binary odor mixtures. *Physiology and Behavior*, 33(2), 309-319.

Laska, M., & Hudson, R. (1993). Discriminating parts from the whole: Determinants of odor mixture perception in squirrel monkeys, *saimiri sciureus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 173(2), 249-256.

Laurent, M.-H., Henick-Kling, T. & Acree, T. E. (1994). Changes in the aroma and odor of Chardonnay wine due to malolactic fermentation. *Die Wein Wissenschaft*, 49(1): 3-10.

Lavaud, S. (2001). Le Sauternais avant le Sauternes. Genèse d'un terroir viticole (XIII^e-XVII^e siècles). In *Le vin à travers des âges, produit de qualité, agent économique*. Editions Féret. Bordeaux-France.

Lavigne, V., Henry, R., & Dubourdieu, D. (1998). Identification and determination of sulfur compounds responsible for "grilled" aroma in wines. *Sciences Des Aliments*, 18(2), 175-191.

Le Berre, E., Béno, N., Ishii, A., Chabanet, C., Etiévant, P., & Thomas-Danguin, T. (2008). Just noticeable differences in component concentrations modify the odor quality of a blending mixture. *Chemical Senses*, 33(4), 389-395.

Le Berre, E., Jarmuzek, E., Béno, N., Etiévant, P., Prescott, J., & Thomas-Danguin, T. (2010). Learning influences the perception of odor mixtures. *Chemosensory Perception*, 3(3-4), 156-166.

Ledl, F., & Schleicher, E. (1990). New aspects of the maillard reaction in foods and in the human body. *Angewandte Chemie (International Edition in English)*, 29(6), 565-594.

Linszen, J. P. H., Janssens, A. L. G. M., Reitsma, H. C. E., Bredie, W. L. P., & Roozen, J. P. (1993). Taste recognition threshold concentrations of styrene in oil-in-water emulsions and yoghurts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(4), 457-462.

Lizárraga-Guerra, R., Guth, H., & López, M. G. (1997). Identification of the most potent odorants in huitlacoche (*ustilago maydis*) and austern pilzen (*pleurotus sp.*) by aroma extract

López, R., Ferreira, V., Hernández, P., & Cacho, J. F. (1999). Identification of impact odorants of young red wines made with Merlot, Cabernet Sauvignon and Grenache grape varieties: A comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(11), 1461-1467.

López, R., Ortín, N., Pérez-Trujillo, J. P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3419-3425.

Lorrain, B., Ballester, J., Thomas-Danguin, T., Blanquet, J., Meunier, J. M., & Le Fur, Y. (2006). Selection of potential impact odorants and sensory validation of their importance in typical Chardonnay wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 3973-3981.

Loscos, N., Hernandez-Orte, P., Cacho, J., & 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.

Lytra, G., Tempere, S., De Revel, G., & Barbe, J. C. (2012a). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(6), 1503-1509.

Lytra, G., Tempère, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2012b). Impact of perceptive interactions on red wine fruity aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12260-12269.

Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., De Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8504-8513.

Ma, S., & Lu, X. (1990). Differentiation of the reactivities of carbon-carbon multiple bonds in one molecule. highly chemo- and stereo-selective hydrohalogenation of allyl or propargyl propiolates. *Tetrahedron Letters*, 31(52), 7653-7656.

Maarse, H., Visscher, C. A., Willemsens, L. C. & Boelens, M. H. (1992). Volatile compounds of Food : Qualitative and Quantitative Data. *Zeist, The Netherlands, TNO Biotechnology and Chemistry Institute*.

Maga, J. A. (1976). Lactones in foods. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8(1), 1-56.

Mandalakis, M., & Gustafsson, Ö. (2003). Optimization of a preparative capillary gas chromatography-mass spectrometry system for the isolation and harvesting of individual polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A*, 996(1-2), 163-172.

Marais, J. (1978). The effects of pH on esters and quality of Colombar wine during maturation. *Vitis*, 17, 396-403.

Marais, J., & 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.

Marchal, A., Waffo-Téguo, P., Génin, E., Mérillon, J. M., & Dubourdiou, D. (2011). Identification of new natural sweet compounds in wine using centrifugal partition chromatography-gustatometry and Fourier transform mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 83(24), 9629-9637.

Martin, N., & De Revel, G. (1999). Evaluation sensorielle: Bases scientifiques et applications œnologiques. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 33(SPEC. ISS.), 85-98.

Masneuf, I., & Dubourdiou, D. (2000). Yeast strains role on the sulphur dioxide combinations of wines obtained from noble rot and raisining grapes. [Rôle de la souche de levure sur les combinaisons du dioxyde de soufre des vins issus de raisins botrytisés et passerillés] *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 34(1), 27-31.

Masson, G., & Schneider, R. (2009). Key compounds of Provence rosé wine flavor. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(1), 116-122.

Masuda, M. & Nishimura, K. (1971). Branched nonalactones from some *Quercus* species, *Phytochemistry*, 10, 1401-1402.

McDaniel, M. R., Miranda-Lopez, R., Watson, B. T., Micheals, N. J. et Libbey, L. M. (1989). Pinot noir aroma : a sensory/gas chromatographic approach. *Flavors and off flavors, Proceedings of the 6th International Flavor Conference, Rethymmon, Crete (Greece), Elsevier Science*.

Miklósy, E., & Kerényi, Z. (2004). Comparison of the volatile aroma components in noble rotted grape berries from two different locations of the Tokaj wine district in Hungary. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 177-181.

Miklósy, É., Kalmár, Z., & Kerényi, Z. (2004). Identification of some characteristic aroma compounds in noble rotted grape berries and Aszú wines from Tokaj by GC-MS. *Acta Alimentaria*, 33(3), 215-226.

Moio, L., Schlich, P. & Etievant, P. (1994). Aquisition et analyse d'aromagrammes de vins de Bourgogne issus du cépage Chardonnay. *Science des Aliments*, 14(5): 601-608.

Mosandl, A. (1992). Capillary gas chromatography in quality assessment of flavours and fragrances. *Journal of Chromatography*, 624(1-2), 267-292.

Mosandl, A., & Günther, C. (1989). Stereoisomeric flavor compounds. 20. structure and properties of γ -lactone enantiomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(2), 413-418.

Muller, C. J., Kepner, R. E., & Webb, A. D., (1973). Lactones in wine-a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 24(1), 5-9.

Nikolantonaki, M., & Darriet, P. (2011). Identification of ethyl 2-sulfanylacetate as an important off-odor compound in white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 10191-10199.

Nikolantonaki, M., Chichuc, I., Teissedre, P. L., & Darriet, P. (2010). Reactivity of volatile thiols with polyphenols in a wine-model medium: Impact of oxygen, iron, and sulfur dioxide. *Analytica Chimica Acta*, 660(1-2), 102-109.

Nikolantonaki, M., Jourdes, M., Shinoda, K., Teissedre, P. L., Quideau, S., & Darriet, P. (2012). Identification of adducts between an odoriferous volatile thiol and oxidized grape phenolic compounds: Kinetic study of adduct formation under chemical and enzymatic oxidation conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2647-2656.

Nisiotou, A. A., Spiropoulos, A. E., & Nychas, G. -J. E. (2007). Yeast community structures and dynamics in healthy and botrytis-affected grape must fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21), 6705-6713.

Nitz, S., Kollmannsberger, H., Weinreich, B., & Drawert, F. (1991). Enantiomeric distribution and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio determination of γ -lactones: Appropriate methods for the differentiation between natural and non-natural flavours? *Journal of Chromatography A*, 557(C), 187-197.

Ochiai, N., & Sasamoto, K. (2011). Selectable one-dimensional or two-dimensional gas chromatography-olfactometry/mass spectrometry with preparative fraction collection for analysis of ultra-trace amounts of odor compounds. *Journal of Chromatography A*, 1218(21), 3180-3185.

Olsson M.J. 1994. An interaction-model for odor quality and intensity. *Perception & Psychophysics*, 55(1), 363-372.

Ong, P. K. C., & Acree, T. E. (1999). Similarities in the aroma chemistry of Gewurztraminer variety wines and lychee (litchi chinesis sonn.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 665-670.

Otsuka, K., Zenibayashi, Y., Itoh, M. and Totsuka, A. (1974). Presence and significance of two diastereomers of β -methyl- γ -octalactone in aged distilled liquors. *Agric. Biol. Chem.* 38, 485-490.

Padgett, M., & Morrison, J.C. (1990). Changes in grape berry exudates during fruit development and their effect on mycelial growth of *Botrytis cinerea*. *Journal of American Society for Horticultural science*, 115(2), 269-273.

Paloc, J., Torres, P., Seguin, A., Pages, J., Bayonove, C. & Baumes, R. (1993). Caractéristiques aromatiques des cépages Muscats à petits grains et Muscats d'Alexandrie dans les V.D.N. Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins. *Actes du symposium International. Ed: Revue Française d'Œnologie*, 40-46.

Patte, F., & Laffort, P. (1979). An alternative model of olfactory quantitative interaction in binary mixtures. *Chemical Senses and Flavor*, 4(4), 267-274.

Pérez-Coello, M. S., Sanz, J., & Cabezudo, M. D. (1999). Determination of volatile compounds in hydroalcoholic extracts of French and American oak wood. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(2), 162-165.

Peynaud, E., & Blouin, J. (2006). *Le goût du vin-Le grand livre de la dégustation*. Paris, Editions Dunod.

Peyrot des Gachons, C., Tominaga, T., & Dubourdieu, D. (2000). Measuring the aromatic potential of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc grapes by assaying S-cysteine conjugates, precursors of the volatile thiols responsible for their varietal aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3387-3391.

Peyrot des Gachons, C., Tominaga, T., & Dubourdieu, D. (2002). Sulfur aroma precursor present in S-glutathione conjugate form: Identification of S-3-(hexan-1-ol)-glutathione in must from *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4076-4079.

Pineau B. (2007). Contribution à l'étude de l'arôme fruité spécifique des vins rouges de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot noir et Cabernet-Sauvignon. Thèse de Doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2.

Pineau, B., Barbe, J.C., van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2007). Which impact for β -damascenone on red wines aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4103-4108.

Pineau, B., Barbe, J.C., van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3702-3708.

Piombino, P., Nicklaus, S., Le Fur, Y., Moio, L. & Le Quéré, J. L. (2003). « Berry » aroma of wine: sensory and olfactory analysis. In: *Flavour research at the dawn of the twenty first century. Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium*. Paris, France, Lavoisier (Eds.), p. 702-705.

Pollien, P., Ott, A., Montigon, F., Baumgartner, M., Muñoz-Box, R., & Chaintreau, A. (1997). Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: Screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2630-2637.

Pons A. (2006). Recherches sur l'arôme de vieillissement prématuré des vins. Thèse de Doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2011). Identification et impact organoleptique de la massoia lactone dans raisins du cépage Merlot et les vins rouges. 9^{ème} Symposium International d'Œnologie de Bordeaux. 15-17 Juin 2011 Bordeaux- France.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2013). Role of 3-methyl-2,4-nonanedione in the flavor of aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(30), 7373-7380.

Pons, A., Lavigne, V., Frérot, E., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2008). Identification of volatile compounds responsible for prune aroma in prematurely aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5285-5290.

Priser, C. (1997). Contribution à la caractérisation objective de l'arôme de vins de champagne par des méthodes sensorielles et physico-chimiques. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne.

Pucneau-Plante, B., & Seguin, G. (1981). Influence des facteurs naturels sur la maturation et la surmaturation du raisin dans les Sauternais en 1978 et 1979. *Connaissance Vigne Vin*, 3, 143-160.

Pucneau-Plante, B., (1979). Le développement de *Botrytis cinerea* sous la forme de pourriture noble en Sauternais. Etude en microscopie électronique à balayage et à transmission. *C.R. Act. Lab.*, 120-121.

Rainka, M. P., Milne, J. E., & Buchwald, S. L. (2005). Dynamic kinetic resolution of α,β -unsaturated lactones through asymmetric copper-catalyzed conjugate reduction: Application to the total synthesis of eupomatilone-3. *Angewandte Chemie - International Edition*, 44(38), 6177-6180.

Rapp, A., Kripser, W., Engel, L., Ullemeyer, H., & Heimann W. (1980). Off- flavor compounds in the berry and wine aroma of grapevine hybrids. I. The strawberry-like flavor. *Vitis*, 19, 13-23.

Reinhard, J., Sinclair, M., Srinivasan, M. V., & Claudianos, C. (2010). Honeybees learn odour mixtures via a selection of key odorants. *PLoS ONE*, 5(2)

Reynolds, A. G., Fukeki, T., & Evans, W. D. (1982). Inheritance of methyl anthranilate and total volatile esters in *Vitis* spp. *American Journal of Enology and Viticulture*, (33)1, 14-19.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A. and Dubourdiou D. (2012). *Traité d'Œnologie. Chimie du vin. Stabilisation et traitements. 6^e édition. Dunod Paris.*

Ribéreau-Gayon, P., Boidron, J. N., & Terrier, A. (1975). Aroma of muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), 1042-1047.

Richardson, J. T. E., & Zucco, G. M. (1989). Cognition and Olfaction: A review. *Psychological Bulletin*, 105(3), 352-360.

Rocha, S., Ramalheira, V., Barros, A., Delgadillo, I., & 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.

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

Rowe, D. (2004). Fun with furans. *Chemistry & Biodiversity*, 1(12), 2034-2041.

Salette, J. (1997), La typicité: Une notion nouvelle au service du produit, de ceux qui l'élaborent et de ceux qui le consomment en l'appréciant. *Revue des Œnologues*, (85) 11-13.

Salgues, M., Cheynier, V., Gunata, Z., & Wylde, R. (1986). Oxidation of grape juice 2-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid by *Botrytis cinerea* lactase and characterization of a new substance: 2,5-di-S-glutathionyl caffeoyl tartaric acid. *Journal of Food Science*, 51(5), 1191-1194.

Sapountzis, I., Dohle, W., & Knochel, P. (2001). Stereoselective preparation of highly functionalized (Z)-3-magnesiated enoates by an iodine - magnesium exchange reaction. *Chemical Communications*, (20), 2068-2069.

Sarrazin, E. (2007). Recherches sur l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble issus des cépages Semillon et Sauvignon blanc. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

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

Sarrazin, E., Shinkaruk, S., Pons, M., Thibon, C., Bennetau, B., & Darriet, P. (2010). Elucidation of the 1,3-sulfanylalcohol oxidation mechanism: An unusual identification of the disulfide of 3-sulfanylhexanol in Sauternes botrytized wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10606-10613.

Sarrazin, E., Shinkaruk, S., Tominaga, T., Bennetau, B., Frérot, E., & Dubourdiou, D. (2007b). 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.

Sarrazin, E., Tominaga, T., Darriet, P. Correlation between sensory typicality and aromatic composition in Sauternes botrytized wines. In: Blank I., Wüst M., Yeretzián C. (Eds) Expression of Multidisciplinary Flavour Science. Proceedings of the 12th Weurman Symposium, Interlaken (Switzerland), 2008, 72-75.

Sauvageot F. Evaluation Sensorielle, Manuel Méthodologiques. Paris: TEC&APRIA, 1990:15–30.

Sauvageot, F. (1994). Les sciences de l'aliment et le concept de typicité ou le chercheur en sciences de la nature a-t-il quelque chose à déclarer sur la typicité d'un produit alimentaire ? *Sciences des Aliments*, 14, 557-571.

Schemper, T., Scott, V., & Cain, W.S. (1981). Odour identification in young and elderly persons : Sensory and cognitive limitations. *Journal of Gerontology*, 36, 446-452.

Schieberle, P. (1991a). Primary odorants in popcorn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(6), 1141-1144.

Schieberle, P. (1991b). Primary odorants of pale lager beer-differences to other beers and changes during storage. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 193(6), 558-565.

Schieberle, P., & Grosch, W. (1991). Potent odorants of the wheat bread crumb differences to the crust and effect of a longer dough fermentation. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 192(2), 130-135.

Schieberle, P., & Grosch, W. (1994). Potent odorants of rye bread crust-differences from the crumb and from wheat bread crust. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 198(4), 292-296.

Schneider, R., Kotseridis, Y., Belancic Majeenovic, A. C. A., & Alain, R. (2003). Quantification of furanéol and homofuraneol in *Vitis vinifera* wines by stable isotope dilution assay using GC-MS/MS. In *Flavour Research at the dawn of the twenty first century, Proceedings of the 10th Weurman symposium*. Paris, France, Lavoisier (Eds.) pp 710-714.

Schüttler A. (2012). Influencing factors on aromatic typicality of wines from *Vitis vinifera* L. cv. Riesling-sensory, chemical and viticultural insights. Thèse de Doctorat. Université Bordeaux Segalen.

Schüttler, A., Hoppe, E. J., Pons, A., Rauhut, D., & Darriet, P., (2013). Trans-ethyl cinnamate – a non-considered volatile compound and its possible impact on Riesling wines' aromatic typicality. 8th Edition of *In Vino Analytica Scientia Symposium*. 2-5 July 2013. Reims-France.

Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., Salles, M., & Baumes, R. L. (2004). Contribution of dimethyl sulfide to the aroma of syrah and grenache noir wines and estimation of its potential in grapes of these varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 7084-7093.

Shepherd, G, M, (2006). Smell images and the flavor system in the human brain. *Nature*, 444(7117), 316-321.

Silva Ferreira, A. C., Hogg, T., & Guedes De Pinho, P. (2003a). Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1377-1381.

Silva Ferreira, A. C., Rodrigues, P., Hogg, T., & De Pinho, P. G. (2003b). Influence of some technological parameters on the formation of dimethyl sulfide, 2-mercaptoethanol, methionol, and dimethyl sulfone in Port wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 727-732.

Simpson, R. F. et Miller, G. C. (1984). Aroma composition of Chardonnay wine. *Vitis*, 23: 143-158.

Sinding, C., Thomas-Danguin, T., Chambault, A., Béno, N., Dosne, T., Chabanet, C., Shaal, B., & Coureaud, G. (2013). Rabbit neonates and human adults perceive a blending 6-component odor mixture in a comparable manner. *PLoS ONE*, 8(1), art. no. e53534.

Spillman, P. J., Sefton, M. A., & Gawel, R. (2004). The contribution of volatile compounds derived during oak barrel maturation to the aroma of a chardonnay and cabernet sauvignon wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(3), 227-235.

Stamatopoulos P. & Darriet P. (2012). Understanding the “overripe” fruity flavor of dessert wines by fractionation, recombination analysis and omission tests. International meeting, Macrovision of viticulture, wine-making and markets. 18-21 June 2012. Bordeaux-France.

Sumby, K. M., Grbin, P. R., & 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.

Sun, Q., Gates, M. J., Lavin, E. H., Acree, T. E., & Sacks, G. L. (2011). Comparison of odor-active compounds in grapes and wines from *Vitis vinifera* and non-foxy american grape species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(19), 10657-10664.

Suomalainen, H.; Nykanen, L. (1970). Investigation into the aroma of alcoholic beverages. *Naeringsmiddelindustrien*, 23, 15-30.

Tempère, S., Cuzange, E., Malak, J., Bougeant, J. C., De Revel, G., & Sicard, G. (2011). The training level of experts influences their detection thresholds for key wine compounds. *Chemosensory Perception*, 4(3), 99-115.

Thibon, C., Cluzet, S., Mérillon, J. M., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2011). 3-slfanylhexanol precursor biogenesis in grapevine cells: The stimulating effect of *Botrytis cinerea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1344-1351.

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

Tominaga, T., Baltenweck-Guyot, R., Peyrot des Gachons, C., & Dubourdieu, D. (2000). Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(2), 178-181.

Tominaga, T., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (1996). Identification of 3-mercaptohexyl acetate in Sauvignon wine, a powerful aromatic compound exhibiting box-tree odor. *Vitis*, 35(4), 207-210.

Tominaga, T., Des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998a). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5215-5219.

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

Tominaga, T., Guimbertau, G., & Dubourdieu, D. (2003a). Contribution of benzenemethanethiol to smoky aroma of certain *Vitis vinifera* L. wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1373-1376.

Tominaga, T., Guimbertau, G., & Dubourdieu, D. (2003b). Role of certain volatile thiols in the bouquet of aged Champagne wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 1016-1020.

Tonsbeek, C. H. T., Plancken, A. J., & Weerdhof, T. V. D. (1968). Components contributing to beef flavor: Isolation of 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanone and its 2,5-dimethyl homolog from beef broth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 1016-1021.

Tressl, R., Albrecht, W., Kernsten, E., Nikkta, C, & Rewieki, D. (1993). Enzymatic and thermal conversion of (²H)- and (¹³C)- labeled precursors to flavor compounds. In *Progress m Flavour Precursors Studies* Schreier, P.; Winterhalter, P. Eds.; Allured Publishing Company, Carol Stream, II, p 7.

Tressl, R., Apetz, M., Arrieta, R., & Grunewald, K.G., (1978). Formation of lactones and terpenoids by microorganisms. In *Flavor of food and beverages*. Charalambous G; and Inglett, G.E., , Academic Press, New York, pages 145-168.

Tressl, R., Bahri, D., Köppler, H., & Jensen, A. (1978). Diphenols and caramel compounds in roasted coffees of different varieties. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 167(2), 111-114.

Uchida, M., Shibata, Y., Kawamura, K., Yoneda, M., Mukai, H., Tanaka, A., . . . Morita, M. (2000). Isolation of individual fatty acids in sediments using preparative capillary gas chromatography (PCGC) for radiocarbon analysis at NIES-TERRA. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 172(1-4), 583-588.

Ullrich, F., & Grosch, W. (1987). Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 184(4), 277-282.

Van Ruth, S. M., & O'Connor, C. H. (2001). Evaluation of three gas chromatography-olfactometry methods: Comparison of odor intensity-concentration relationships of eight volatile compounds with sensory headspace data. *Food Chemistry*, 74(3), 341-347.

Waterhouse, A. L., & Towey, J. P. (1994). Oak lactone isomer ratio distinguishes between wines fermented in american and french oak barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9), 1971-1974.

Weeks, W. W., Chaplin, J. F., & Campbell, C. R. (1989). Capillary chromatography: Evaluation of volatiles from flue-cured tobacco varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(4), 1038-1045.

Wood, J.B., & Harkins, S.W. (1987). Effects of age, stimulus selection and retrieval environment on odour identification. *Journal of Gerontology*, 42, 584-588.

12 ANNEXES

LISTE DE VINS UTILISES LORS DE DIFFERENTS TESTS SENSORIELS

Millésime	Vins	Appellation
2006	Castelnau de Suduiraut	Sauternes
2001	Château Lamothe	Sauternes
2001	Château Malfourat	Sauternes
2003	Château Laville	Sauternes
2005	Château de Malle	Sauternes
2006	Dauphiné Rondillon	Loupiac
2007	Dauphiné Rondillon	Loupiac
2008	Dauphiné Rondillon	Loupiac
2009	Dauphiné Rondillon	Loupiac
2010	Domaine Rouquette	Loupiac
2007	Domaine Cauhapé	Jurançon
1979	Ygrec	Bordeaux
1997	Château d'Yquem	Sauternes
1998	Château d'Yquem	Sauternes
2000	Château d'Yquem	Sauternes
2005	Château d'Yquem	Sauternes
2007	Château d'Yquem	Sauternes
2009	Château d'Yquem	Sauternes
2010	Château d'Yquem	Sauternes
2011	Château d'Yquem Lot 18 Barrique	Sauternes
2011	Château d'Yquem Lot 18 Inox	Sauternes

EXEMPLE D'UNE FICHE A UNE ECHELLE STRUCTUREE

NOM :

Prénom :

Date :

Dégustation orthonasale uniquement

POSTE 3 : Veuillez positionner sur les échelles ci-dessous les 3 échantillons présentés simultanément en fonction de leur intensité sur les différents descripteurs.

Orangée		abs	1	2	3	4	5	6
785		<input type="checkbox"/>						
857		<input type="checkbox"/>						
587		<input type="checkbox"/>						
758		<input type="checkbox"/>						

Floral / Frais		abs	1	2	3	4	5	6
785		<input type="checkbox"/>						
857		<input type="checkbox"/>						
587		<input type="checkbox"/>						
758		<input type="checkbox"/>						

Miel/ Sucre cuit		abs	1	2	3	4	5	6
785		<input type="checkbox"/>						
857		<input type="checkbox"/>						
587		<input type="checkbox"/>						
758		<input type="checkbox"/>						

EXEMPLE D'UNE FICHE A UNE ECHELLE NON STRUCTUREE

Etablissement de profils sensoriels

NOM :

Prénom :

Date :

Evaluer olfactivement l'intensité de chaque descripteur à l'aide de l'échelle proposée

échantillon

Moins intense Très intense

Moins intense Très intense

Mauvais exemple Bon exemple

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications

Identification of a new lactone contributing to overripe orange aroma in Sauternes dessert wines via perceptual interaction phenomena. Panagiotis Stamatopoulos, Eric Frérot, Sophie Tempère, Alexandre Pons & Philippe Darriet. Journal of Agriculture and Food Chemistry. (Soumise)

Communications orales

Stamatopoulos P., Frérot E., & Darriet Ph. (2013). Evidence for perceptual interaction phenomena to interpret typical nuances of “overripe” fruity flavor in Sauternes dessert wines. American Chemical Society 245th National Meeting, Nouvelle Orléans, Louisiane, USA 7-13/ 04/ 2013.

Stamatopoulos P. & Darriet Ph. (2012). Understanding the “overripe” fruity flavor of dessert wines by fractionation, recombination analysis and omission tests. International meeting, Macrovision of viticulture, wine-making and markets - Bordeaux, FRANCE, June 18-21, 2012

Caractérisation des composés impliqués par des phénomènes d'interactions perceptives dans les nuances fruitées de l'arôme des vins liquoreux

Des études récentes ont démontré l'existence d'un espace sensoriel typique des vins liquoreux de Bordeaux. Des composés volatils de familles chimiques différentes ont été identifiés et corrélés avec la typicité de ces vins. Cependant, les composés responsables des nuances aromatiques de « fruits confits », considérées comme des nuances « clés » de l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble, n'avaient pas fait l'objet de recherches préalables.

Les analyses classiques des extraits de vin par CPG-SM n'ont pas permis l'identification des composés responsables des nuances de « fruits confits » et plus précisément des notes d' « orange confite ». Ainsi, une méthode d'étude alternative, reposant sur des approches sensorielles et instrumentales, a été mise en œuvre afin d'étudier les fractions obtenues par CLHP semi préparative. Des tests d'omission ont été réalisés par l'utilisation de la CPG préparative dans le but d'isoler une fraction contenant l'arôme d' « orange confite ». Ces tests ont mis en évidence l'impact de cette fraction sur l'arôme des vins puisque son omission, au niveau de l'aromagramme, entraîne la perte du caractère « fruit confit » dans les extraits.

L'application de la CPG multidimensionnelle, il a permis d'identifier une nouvelle lactone spécifique des vins liquoreux, le 2-nonen-4-olide. Les expériences sensorielles de reconstitution et d'omission, menées à partir de fractions de vin ou en milieu modèle ont permis de souligner l'impact de composés clés - lactones, eugénol et 3-sulfanylhéxanol - avec le 2-nonen-4-olide dans l'expression aromatique des nuances de « fruits confits », et plus particulièrement d' « orange confite » au travers d'un phénomène d'accord aromatique. Par ailleurs, les corrélations entre le niveau de typicité de vins liquoreux de Bordeaux et les teneurs de ces composés ont été étudiées. Enfin, la genèse du 2-nonen-olide a été appréciée au cours de la botrytisation de raisins de Sémillon puis pendant l'élevage des vins en barrique.

Mots clés : arôme fruité, omission, reconstitution, *Botrytis cinerea*, vins liquoreux

Characterization of the compounds contributing to fruity aroma of dessert wines via perceptual interactions phenomena

Recent studies have demonstrated the existence of a typical sensory concept for Bordeaux dessert wines. Volatile compounds from several chemical families were identified and correlated with aromatic typicality in these wines. However, the compounds responsible for “key” aromas, particularly those recalling “overripe” fruits, had not previously been interpreted.

Classical analysis of wine extracts by GC-MS was not successful in identifying the compounds responsible for these ripe fruity notes. An alternative strategy was developed in this research combining both analytical and sensory studies of wine fractions extracts obtained by semi-preparative HPLC. Omission tests were conducted using preparative GC with cryotrapping in order to evidence the fraction presenting overripe fruit nuances focusing on orange notes. These tests demonstrated the impact of this fraction on the wine aroma, as the overripe fruity note disappeared when this section was not trapped.

Multidimensional CPG allowed the identification of a new lactone, 2-nonen-4-olide, typical to dessert wines. Reconstitution and omission tests carried out from wine HPLC fractions or in a model wine medium, highlighted the importance of specific compounds - lactones, eugenol and 3-sulfanylhéxanol - with 2-nonen-4-olide, on the overripe fruit aromas expression and particularly on orange notes via perceptual blending. Furthermore, the correlations between the level of typicality of Bordeaux sweet wines and the levels of these compounds were studied. Finally, the evolution of 2-nonen-4-olide was evaluated during the botrytisation of Semillon grapes as well as in wines during aging in barrels.

Keywords: fruity aroma, omission, reconstitution, *Botrytis cinerea*, dessert wine