

PRINCIPALES ACQUISITIONS SUR LE POTENTIEL AROMATIQUE DES QUATRE CEPAGES ETUDIÉS

Ricardo López¹, Olivier Geffroy², Elisa Gracia-Moreno¹, Julian Zapata¹, Vicente Ferreira¹, Eric Serrano², Juan Cacho¹

¹Laboratorio de Análisis del Aroma y Enología. Universidad de Zaragoza (Espagne)

²Institut Français de la Vigne et du Vin Pôle Sud-Ouest (France)

Travail présenté au Colloques Internationaux sur les Arômes du Vin (Project VINAROMAS), Toulouse et Saragosse, les 20 et 22 Novembre, 2012

Introduction

Les raisins renferment de nombreux composés présents sous la forme de précurseurs glycosidiques et cystéinylés [1]. La majorité de cet ensemble de précurseurs est transmis au vin, sans être altéré, via la fermentation alcoolique, [2, 3]. Ce pool de composé constitue un réservoir important arômes libérables après hydrolyse acide et/ou réarrangement moléculaire [4, 5]. Au cours du vieillissement, les composés libérés viendront enrichir le profil sensoriel du vin (dans quelques rares cas l'appauvrir) ou remplacer les composés dégradés jusqu'à épuisement de ce réservoir. Ces phénomènes jouent un rôle important dans l'évolution aromatique du vin [6, 7]. En dehors de quelques variétés spécifiques [5, 8, 9] les fractions de précurseurs glycosidiques ne sont pas retrouvées à des concentrations suffisamment élevées pour posséder individuellement un impact sensoriel. Ils fournissent cependant une grande variété de composés appartenant aux familles des terpénols, norisoprénoides, benzénoides, γ -lactones, phénols volatils et dérivés de la vanilline qui, tous ensemble, contribuent de manière significative aux notes sucrées et florales de vins [10]. La β -damascénone mérite une mention spéciale puisqu'elle joue un rôle essentiel dans la perception des notes fruitées des vins [11, 12].

Les cinétiques d'hydrolyse dépendent essentiellement de la structure de l'aglycone et de son point de glycosylation [13]. Avant de former la molécule aromatique proprement dite, certains des aglycones libérés doivent subir une série de transformations chimiques catalysées en milieu acide. Ceci est particulièrement marquant dans le cas des norisoprénoides [5]. Ces phénomènes d'hydrolyse coexistent avec d'autres processus de dégradation ou de combinaisons moléculaires [14]. Les tendances généralement observées sont caractérisées par une première phase d'augmentation de ces composés dans le vin et sont ensuite suivies, après avoir atteint un pic, d'une phase de diminution. Il existe de grandes différences de comportement entre les composés en fonction de leur stabilité dans le vin et de la facilité d'hydrolyse de leurs précurseurs.

Les dernières découvertes dans le domaine de la formation des arômes suggèrent que certains composés associés au caractère variétal font partie intégrante du métabolisme de la levure et ne sont pas uniquement dépendant d'un processus hydrolytique, comme on le pensait auparavant [10]. La levure par exemple, est ainsi capable de synthétiser des monoterpènes même en l'absence de précurseurs du raisin [15]. La souche de levure a également une influence sur la libération des arômes variétaux libérés à partir de leurs précurseurs. C'est notamment le cas des norisoprénoides et des monoterpènes [16].

Pour les 4 variétés étudiées dans le cadre du projet VINAROMAS, cet article présente les teneurs en précurseurs glycosidiques et en autres précurseurs aromatiques mesurés sur raisins. Il comprend également des observations sur l'influence de la date de récolte sur les arômes variétaux des vins.

1. Protocole expérimental

1.1 Analyses des précurseurs dans les raisins

Echantillons analysés: les raisins de Grenache et de Carignan utilisés ont été récoltés à la main dans le vignoble espagnol de Cariñena (DO). Ceux de Fer Servadou et de Gros Manseng proviennent respectivement des vignobles de Gaillac et des Côtes de Gascogne en France. La récolte a été réalisée à deux dates distinctes sauf pour le Gros Manseng. La première date intervient 7-10 jours avant la maturité phénolique, la seconde au moment de la maturité phénolique. Après récolte, les raisins sont conservés à -30°C au laboratoire jusqu'au moment de l'analyse.

Préparation de l'extrait de précurseurs : l'isolement et l'hydrolyse des précurseurs aromatiques sont réalisés selon la méthode développée dans notre laboratoire [10]. En résumé, les précurseurs glycosidiques sont isolés des moûts et des pellicules par une extraction en phase solide. Ensuite, la fraction de précurseurs isolés est hydrolysée par hydrolyse acide (pH 2.5, 100 °C, 1 h).

Analyses des arômes libérés : ces analyses sont effectuées par GC-MS selon la méthode [10].

1.2 Analyses des composés volatiles dans les vins

Echantillons analysés : les vins analysés ont été élaborés à partir des raisins mentionnés dans le paragraphe précédent. Plusieurs techniques de macération ont été mises en œuvre mais les résultats présentés ici se limiteront à ceux des vins témoin fermentés pendant 8 jours à 25°C selon le protocole standard de l'IFV Sud-Ouest.

Analyses des composés volatiles : 4 méthodes différentes ont été utilisées. Pour les composés dits majoritaires (concentrations en mg/l), une micro-extraction liquide-liquide et une analyse GC-FID selon la méthode [17] a été mise en œuvre. Pour les composés minoritaires (concentrations en µg/l et ng/l), les analyses ont été réalisées après extraction en phase solide et GC-MS selon la méthode [18]. En ce qui concerne les alkylmethoxypyrazines la méthode [19] a été utilisée. La méthode [20] a été mise en œuvre pour les thiols polyfonctionnels.

2. Teneurs en précurseurs glycosidiques des raisins

Au cours de ce travail réalisé sur trois millésimes et quatre cépages, les précurseurs glycosidiques ont été isolés puis soumis à une hydrolyse en milieu acide. Les niveaux d'arômes libérés sont cohérents étant donné que les quatre cépages étudiés ne sont pas connus comme étant « muscaté ». Certains écarts peuvent être observés entre les cépages, malgré les différences attendues entre les dates de récolte.

Les terpénols sont les composés aromatiques, libérés à partir de précurseurs, les plus connus en œnologie. Leur contribution sensorielle a longtemps été limitée aux variétés muscatées mais on sait aujourd'hui que même s'ils n'ont pas d'impact direct sur les variétés neutres, ils contribuent aux notes douces et florales [10]. Parmi les variétés étudiées, le Grenache a montré des niveaux supérieurs en terpénols (principalement en linalol, en α -terpinéol et leurs dérivés) en 2010. Ces différences n'ont pas pu être mises en évidence pour les autres millésimes sur ce cépage. Afin de simplifier l'interprétation des résultats, il est possible de considérer la valeur de 20 mg / kg comme seuil à partir duquel les terpénols, lorsqu'ils sont complètement hydrolysés, possèdent un impact subtil sur l'arôme du vin. En 2009 et 2010 sur Fer Servadou et en 2010 pour le Grenache, les précurseurs étaient présents potentiellement en concentrations suffisantes afin de contribuer aux notes florales des vins.

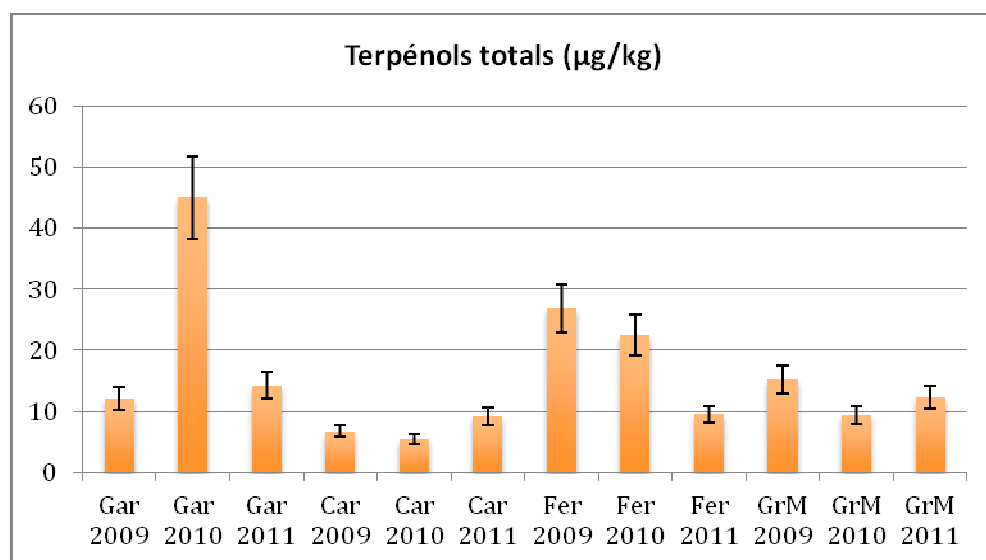


Figure 1: concentrations en terpénols totaux libérés par hydrolyse dans les variétés étudiées (Gar=Grenache, Car=Carignan, Fer=Fer Servadou, GrM=Gros Manseng)

Dans la famille des dérivés de la vanilline, les composés suivants ont été étudiés : vanilline, vanillate de méthyle et d'éthyle, acétovanillone, zingéron, syringaldéhyde et acétosyringone. Il s'agit de composés dont la présence en quantités importantes dans les vins est plus imputable à l'extraction à partir du bois pendant l'élevage, qu'à une libération par hydrolyse à partir des précurseurs du raisin. Cependant, même sans élevage sous bois, ces composés peuvent posséder un impact subtil sur l'arôme des vins. La figure 2 présente les concentrations en dérivés de la vanilline libérées par hydrolyse acide à partir des précurseurs isolés dans les raisins. Le cépage Grenache se démarque clairement des autres variétés en 2009 et en 2010, même si les concentrations retrouvées sont éloignées du seuil de perception de 900 µg/l.

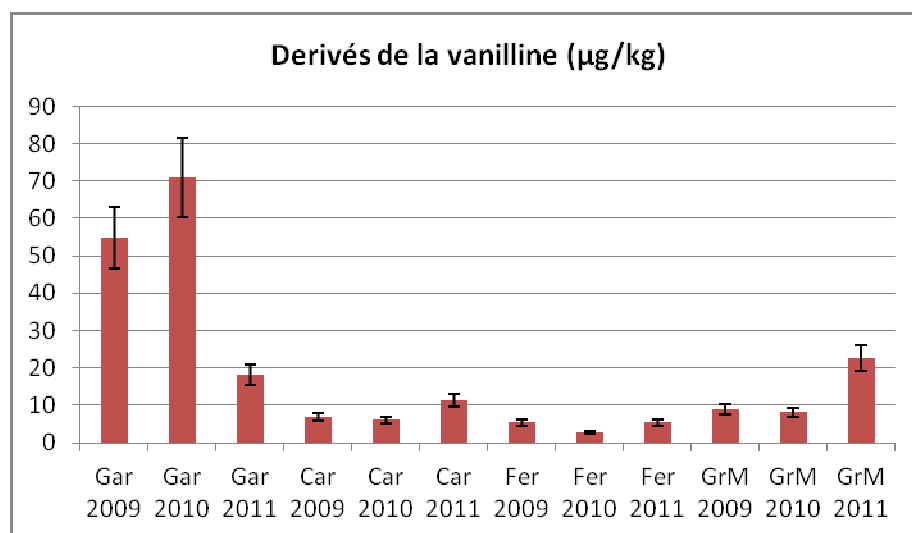


Figure 2: concentrations en dérivés de la vanilline libérés par hydrolyse dans les variétés étudiées

Avec les terpénols, les norisoprénoïdes sont les composés aromatiques libérés par hydrolyse les plus étudiés. Cette famille inclue des composés possédant un impact majeur sur l'arôme des vins comme la β -damascenone et la β -ionone. Il a été démontré que ces composés possèdent un rôle exhausteur des notes fruitées fermentaires. À la différence des composés précédents, ils sont issus uniquement des précurseurs du raisin [21]. La figure 3 présente la somme de ces composés dans

les variétés étudiées. Il est utile de préciser que 95% des quantités mentionnées correspondent à la β -damascenone. Sur cette famille de composé, d'importantes variations peuvent être mises en évidence en fonction des millésimes. Pour tous les cépages, des teneurs supérieures observées en 2011. Les raisins de Fer Servadou sont ceux qui présentent le réservoir le plus faible en ces composés.

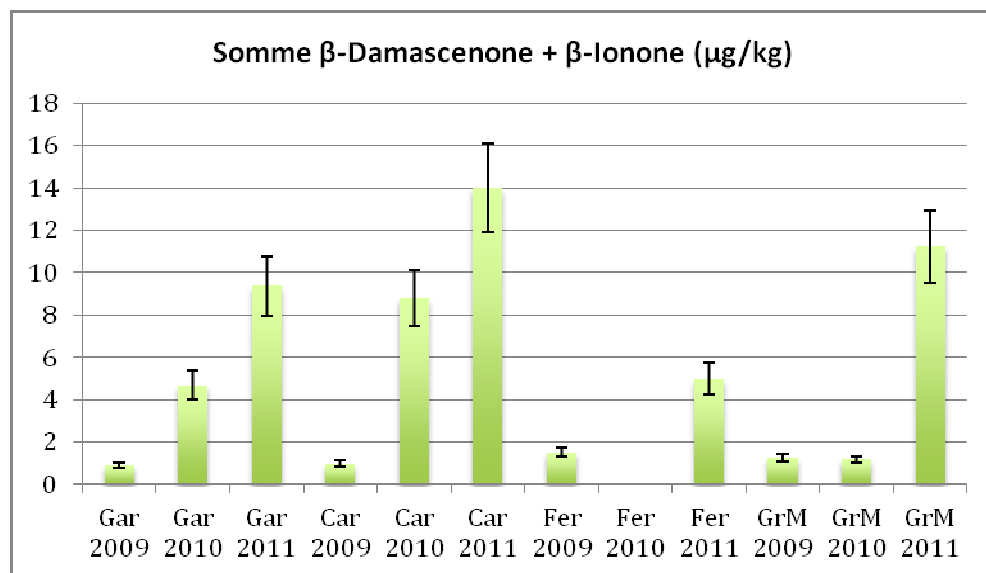


Figure 3: concentrations en β -damascenone et en β -ionone libérés par hydrolyse dans les variétés étudiées

3. Différences aromatiques observées sur les vins témoin

A partir des raisins récoltés au cours des trois années d'étude, plusieurs itinéraires de vinification ont été mis en œuvre. Afin de pouvoir observer les différences aromatiques entre cépages, les résultats présentés sont extraits uniquement des vins témoin élaborés selon le protocole de vinification standard de l'IFV Sud-Ouest (macération de 8 jours à 25°C). Comme précédemment mentionné dans l'introduction, l'arôme variétal proprement dit fait référence aux composés libérés par hydrolyse de précurseurs (glycosidique et cystéinilé) présents dans le raisin. D'autres composés aromatiques, dont la formation dépend du métabolisme des acides aminés, sont également impactés par le cépage.

La β -damascenone est probablement l'un des composés d'origine variétale possédant l'impact le plus fort sur l'arôme des vins élaborés à partir de variétés dites neutres. Comme nous l'avons déjà évoqué, ce composé possède un rôle exhausteur du fruité même si les dégustateurs ne sont pas conscients de sa présence. La figure 4 représente les concentrations retrouvées dans les vins témoin par année et par variété. Par rapport aux analyses réalisées sur raisins, le millésime possède une importance moindre. En moyenne, des teneurs supérieures sont observées dans les vins de Grenache et Carignan. Des études réalisées précédemment sur des vins de Grenache, de Merlot et de Cabernet Sauvignon n'ont pas mis en évidence des différences de concentrations en β -damascenone en fonction du cépage [22]. Ainsi, les différences observées dans les vins du projet VINAROMAS sont vraisemblablement imputables à d'autres variables œnologiques.

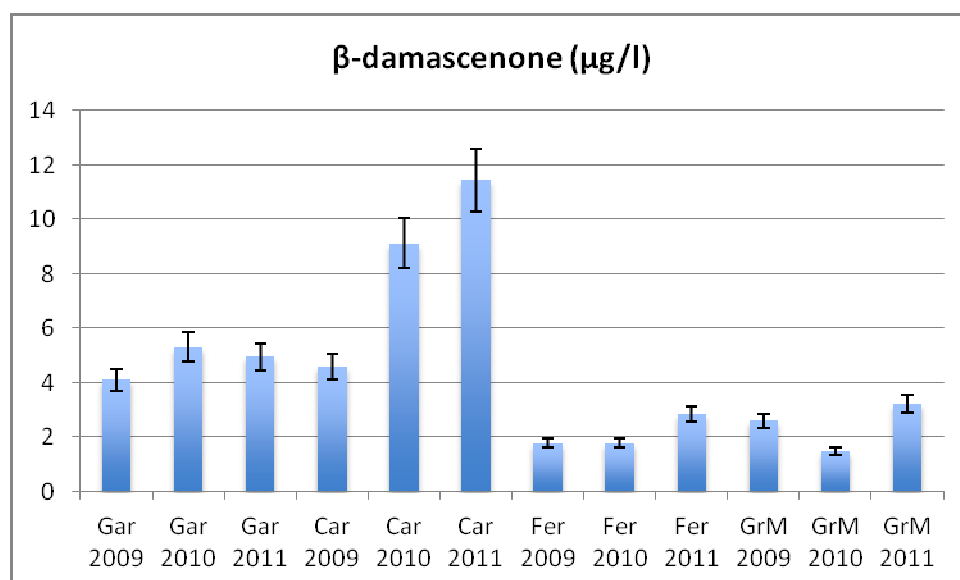


Figure 4: concentration en β -damascenone des vins témoin

Comme nous pouvions l'attendre dans le cas de cépages non « muscatés », les teneurs en linalool dans les vins se situent entre 10 et 4 µg/l pour les vins rouges et en-dessous de 2 µg/l pour les vins blancs de Gros Manseng (Figure 5). Le seuil de perception de ce composé dans les vins étant de 25 µg/l, sa contribution sensoriel dans les vins étudiés demeure faible.

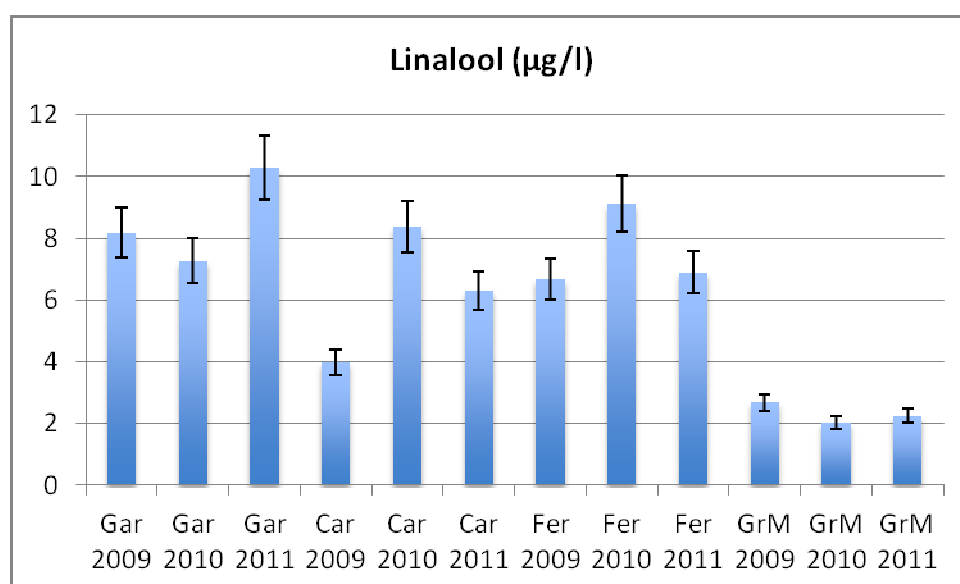


Figure 5: concentrations en linalool dans les vins témoin

Un autre terpénol analysé a été le géraniol (Figure 6). Comme pour le linalool, les concentrations retrouvées dans les vins blancs sont plus faibles. Pour l'ensemble des cépages, les concentrations en terpénol des vins du millésime 2009 sont les plus basses. Même si les teneurs n'atteignent pas le seuil de perception dans les vins témoin (30 µg/l), ce composé en association avec le linalool, le citronelol et l' α -terpéneol peuvent contribuer subtilement aux arômes floraux des vins.

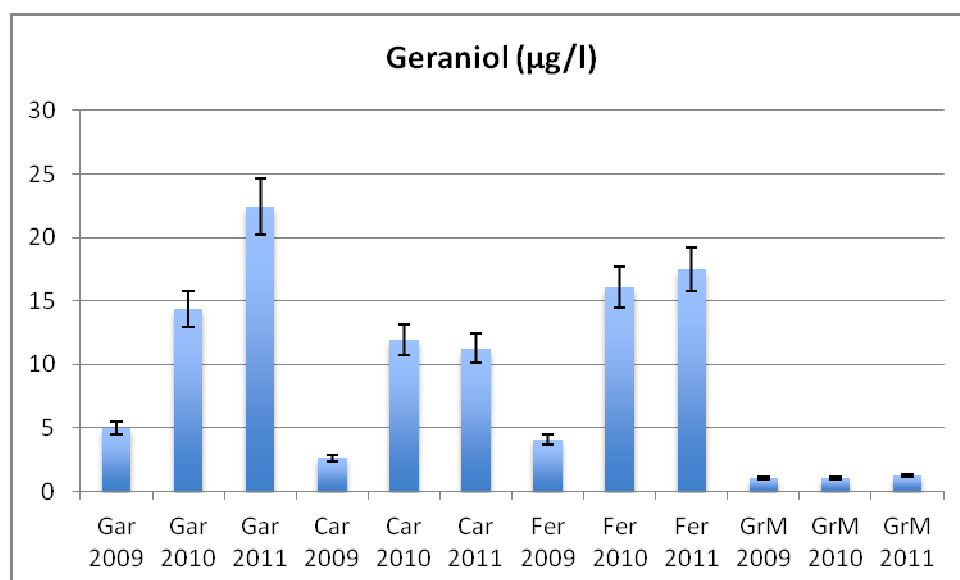


Figure 6: concentrations en géraniole des vins témoin

Les dérivés de la vanilline (vanilline, vanillates de méthyle et d'éthyle, acetovanillona) présentent un profil similaire dans (Figure 7) à ceux retrouvés dans leurs précurseurs. Les teneurs les plus élevées sont notées dans les vins de Grenache. Même si les dérivés de la vanilline dosés dans les vins ne proviennent pas uniquement de leurs précurseurs, il semble exister une corrélation. D'un point de vue sensoriel, il est peu probable que ces composés puissent jouer un rôle sur l'arôme du vin car les concentrations retrouvées sont éloignées de leurs seuils de perception. Cependant, ces composés possédant des propriétés sapides, il est possible qu'elles possèdent un impact sur la perception en bouche.

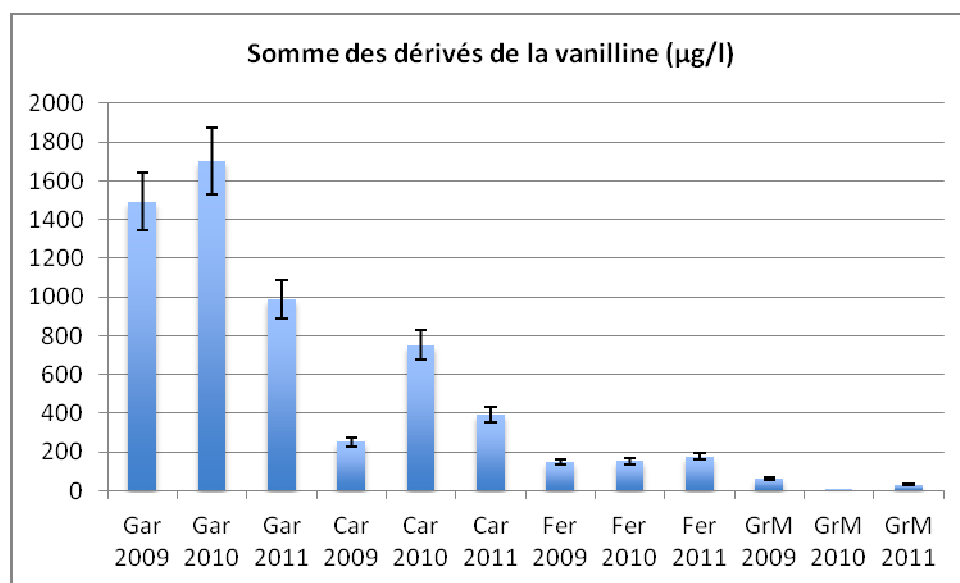


Figure 7: Somme des concentrations en dérivés de vanilline des vins témoin

Une autre famille de composés variétaux importants a également été analysée. Il s'agit des mercaptans polyfonctionnels, principalement le 3-mercaptohexanol, l'acétate de 3-mercaptohexyle (AMH) et la 4-méthyle-4-mercapto-2-pentanone (MMP). Ces composés sont caractéristiques des variétés Sauvignon et se trouvent dans les raisins sous la forme de précurseurs cysteinylés et glutathionnés. Une fois libérés, ils confèrent aux vins des notes de fruits exotiques et de buis très appréciés par les dégustateurs. Dans les variétés analysées au cours du projet Vinaromas, les macérations « témoin » réalisées à 25 °C ne semblent pas être optimales afin de révéler ces

composants. Même si aucun effet associé à la variété n'a pu être clairement mis en évidence, les vins de Grenache sont ceux qui présentent les teneurs les plus faibles en MMP et AMH (Figure 8). D'un point de vue sensoriel, des niveaux d'AMH supérieurs à 17 ng/l dans les rouges confèrent un caractère plus frais [23]. Ce niveau n'est pas atteint dans notre étude. Dans les vins blancs de Gros Manseng, des niveaux supérieurs à 50 ng/l ont été mis en évidence en 2010. Dans les vins rouges de Carignan et particulièrement ceux de Fer Servadou, la MMP retrouvée à des concentrations au-dessus de 10 ng/l, peut contribuer aux notes végétales et de buis [23].

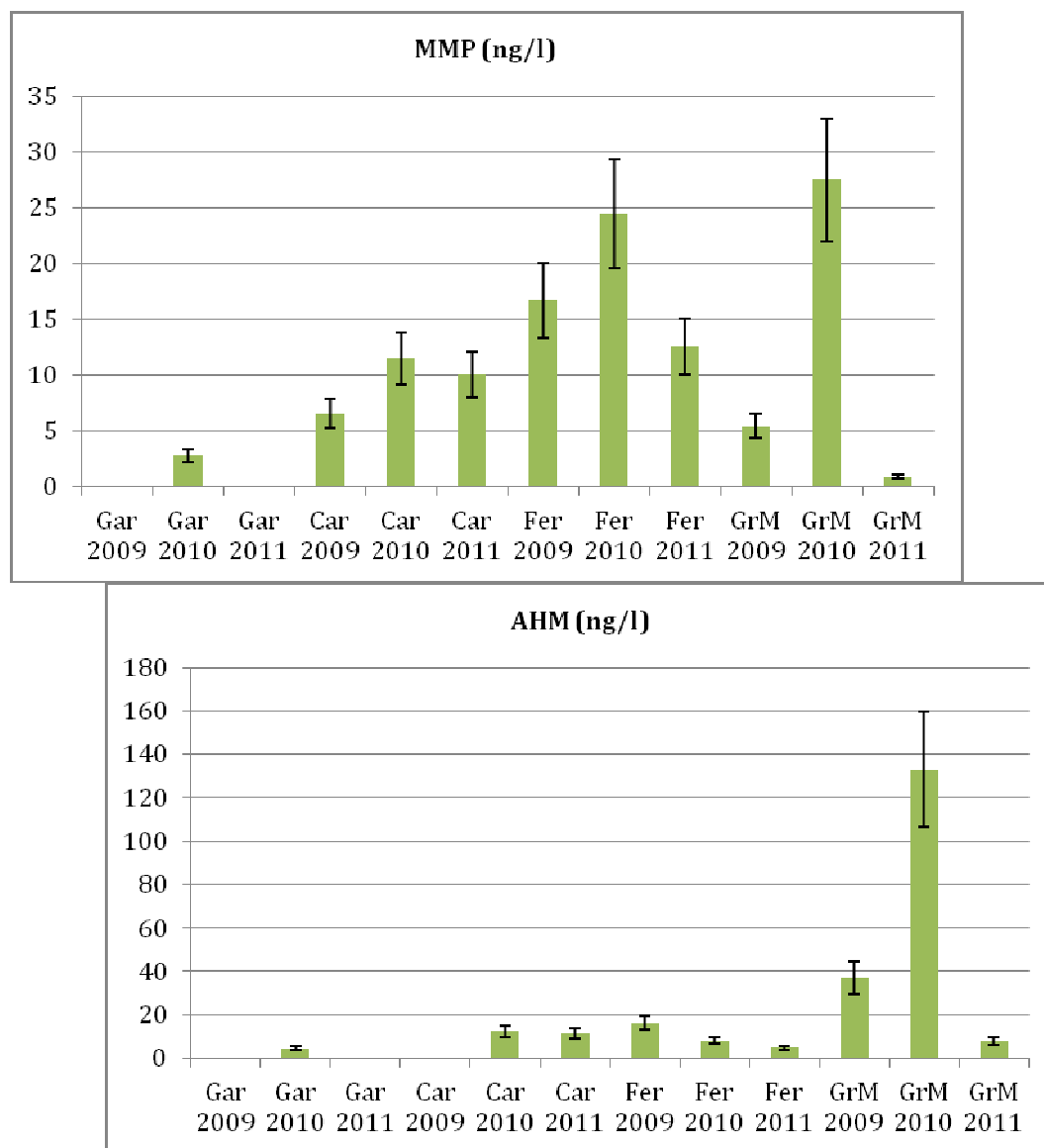


Figure 8: Concentrations en Contenidos en 4-metil-4-mercapto-2-pentantona (MMP) y acetato de mercaptohexilo (AMH) en los vinos testigo

4. Effet de la date de récolte sur l'arôme des vins

Comme mentionné précédemment, la récolte a été réalisée à deux dates distinctes sauf pour le Gros Manseng. La première date intervient 7-10 jours avant la maturité phénolique, la seconde au moment de la maturité phénolique. Le tableau 1 présente quelques observations intéressantes réalisées sur l'impact de la date de récolte. Sur les vins de Fer Servadou, la diminution de la perception des notes pyrazine / végétal à la dégustation semble relier à la baisse des teneurs en

IBMP et en MMP mesurées dans les vins. Pour les vins de Grenache, on peut observer sur la seconde date une augmentation nette de la concentration en vanillate d'éthyle et en gaïacol. Ceci pourrait être lié à la légère augmentation des notes épicées à la dégustation. Dans les vins de Carignan, aucune augmentation significative des teneurs en β -damascenone n'est observée entre les deux dates de récolte. Ceci permet de conclure que le maximum de la courbe de formation des précurseurs associés ne semble pas coïncider avec la maturité phénolique.

Tableau 1: Influence de la date de récolte sur quelques paramètres étudiés. Moyennes des observations réalisées sur les vins témoin de 2009 et 2010.

Cépage	Marqueur et caractéristiques aromatiques associés	1 ^{ère} date	2 nd e date (% variation)
Fer Servadou	Concentration en IBMP (ng/l)	2,4	1,6 (-33%)
	Concentration en 4MMP (ng/l)	36,1	20,6 (-43%)
	Note sur 5 du caractère végétal	1,47	1,08
Grenache	Concentration en vanillate d'éthyle (μ g/l)	685	1113 (+62%)
	Concentration en gaïacol (μ g/l)	1,98	2,52 (+27%)
	Note sur 5 du caractère épicé	0,87	0,94
Carignan	Concentration en β -damascenone (μ g/l)	6,84	7,45 (+9%)
	Note sur 5 de l'intensité aromatique	3,0	3,2

Conclusions

Les expériences présentées ici confirment le rôle secondaire des précurseurs glycosidiques dans l'arôme des vins de Grenache, Carignan, Gros Manseng et Fer Servadou, comme on pouvait s'y attendre sur ces variétés non « muscatées ». Même si le contenu en monoterpènes semble peu conditionné par le cépage, des quantités supérieures en β -damascénone ont peu être relevées dans les vins de Grenache et surtout dans les raisins de Carignan. Les monoterpènes présents dans le vin n'auront pas d'effet sensoriel significatif car ils sont à la limite du seuil de l'olfaction. Par contre, aux concentrations mesurées, la β -damascénone contribuera à la perception fruitée des vins rouges. Cette étude a permis de montrer que le contenu en thiols variétaux des vins n'était pas conditionné par le cépage mais qu'ils étaient présents, en quantité suffisante pour contribuer à l'arôme des vins.

"VINAROMAS est un projet de coopération transfrontalière entre la France et l'Espagne, financé par l'UE dans le cadre du programme Européen de coopération territoriale (POCTEFA), visant à renforcer l'intégration économique et sociale de la zone frontalière Espagne-France-Andorre."

Références bibliographiques

1. Gunata Y, Bayonove C, Baumes R, Cordonnier R: The aroma of grapes I. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. J Chromatogr A 1985, 331:83–90.
2. Ugliano M, Bartowsky EJ, McCarthy J, Moio L, Henschke PA: Hydrolysis and transformation of grape glycosidically bound volatile compounds during fermentation with three Saccharomyces yeast strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2006, 54:6322–6331.

3. Loscos N, Hernandez-Orte P, Cacho J, Ferreira V: Comparison of the Suitability of Different Hydrolytic Strategies To Predict Aroma Potential of Different Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, 57:2468–2480.
4. Sefton MA, Francis IL, Williams PJ: The volatile composition of Chardonnay juices: a study by flavor precursor analysis. *American Journal of Enology and Viticulture* 1993, 44:359–370.
5. Winterhalter P: 1, 1, 6-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene (TDN) formation in wine. 1. Studies on the hydrolysis of 2, 6, 10, 10-tetramethyl-1-oxaspiro [4.5] dec-6-ene-2, 8-diol rationalizing the origin of TDN and related C13 norisoprenoids in Riesling wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1991, 39:1825–1829.
6. Loscos N, Hernández-Orte P, Cacho J, Ferreira V: Evolution of the aroma composition of wines supplemented with grape flavour precursors from different varieties during accelerated wine ageing. *Food Chemistry* 2009.
7. Loscos N, Hernandez-Orte P, Cacho J, Ferreira V: Fate of Grape Flavor Precursors during Storage on Yeast Lees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, 57:5468–5479.
8. Ribéreau-Gayon P, Boidron JN, Terrier A: Aroma of Muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1975, 23:1042–1047.
9. Guth H: Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem* 1997, 45:3027–3032.
10. Loscos N, Hernandez-Orte P, Cacho J, Ferreira V: Release and formation of varietal aroma compounds during alcoholic fermentation from nonfloral grape odorless flavor precursors fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55:6674–6684.
11. Escudero A, Campo E, Fariña L, Cacho J, Ferreira V: 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* 2007, 55:4501–4510.
12. Pineau B, Barbe J-C, van Leeuwen C, Dubourdieu D: Which impact for beta-damascenone on red wines aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55:4103–4108.
13. Presa-Owens C, Noble A: Effect of storage at elevated temperatures on aroma of Chardonnay wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 1997, 48:310.
14. Williams PJ, Strauss CR, Wilson B, Massy-Westropp RA: Studies on the hydrolysis of *Vitis vinifera* monoterpene precursor compounds and model monoterpene. beta.-D glucosides rationalizing the monoterpene composition of grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1982, 30:1219–1223.
15. Carrau FM, Medina K, Boido E, Fariña L, Gaggero C, Dellacassa E, Versini G, Henschke PA: De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS Microbiology Letters* 2005, 243:107–115.
16. Hernandez-Orte P, Cersosimo M, Loscos N, Cacho J, Garcia-Moruno E, Ferreira V: The development of varietal aroma from non-floral grapes by yeasts of different genera. *Food Chemistry* 2008, 107:1064–1077.
17. Ortega C, López R, Cacho J, Ferreira V: Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *J Chromatogr A* 2001, 923:205–214.
18. Lopez R, Aznar M, Cacho J, Ferreira V: Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *J Chromatogr A* 2002, 966:167–177.
19. López R, Gracia-Moreno E, Cacho J, Ferreira V: Development of a mixed-mode solid phase extraction method and further gas chromatography mass spectrometry for the analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wine. *J Chromatogr A* 2011, 1218:842–848.

20. Mateo-Vivaracho L, Zapata J, Cacho J, Ferreira V: Analysis, Occurrence, and Potential Sensory Significance of Five Polyfunctional Mercaptans in White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010:1954–1958.

21. Ferreira V: Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In *Managing wine quality: Viticulture and wine quality (Volume 1)*. edited by Reynolds A Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2010:1–26.

22. Ferreira V, Lopez R, Cacho JF: Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000, 80:1659–1667.

23. Zapata J: Alternativas automáticas y miniaturizadas para la evaluación cuantitativa o semicuantitativa de compuestos volátiles. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. Zaragoza 2012.