

GRAND PRIX 2003

Dominique ROUJOU DE BOUBÉE

Recherches sur la  
2-méthoxy-3-isobutylpyrazine  
dans les raisins  
et dans les vins

ACADEMIE MORIM





# PRÉFACE

Le Groupe Amorim, né du liège en 1870 au Portugal, a fondé les bases de son développement sur cette extraordinaire matière première, à travers la production de cet humble mais inséparable compagnon du Vin : le bouchon de liège.

Notre volonté de servir la cause du vin s'est toujours exprimée dans la recherche technologique sur la filière liège, base de notre activité.

En 1992, nous avons souhaité aller plus loin et nous engager davantage aux côtés des chercheurs en œnologie en créant l'Académie Amorim, un lieu de rencontre et d'échange entre œnologues, ingénieurs, professeurs, sommeliers, auteurs, artistes... tous animés d'une même passion du Vin. Chaque année, notre Académie encourage et soutient la recherche en œnologie par la remise d'un Prix à un chercheur ou à une équipe de chercheurs ayant fait paraître des travaux significatifs qui concourent à la défense et à la promotion de la qualité du Vin. Que soient ici saluées les personnalités, membres de cette Académie, qui contribuent si généreusement à cette mission. Je formule le vœux que cette collection, dédiée aux Lauréats du Grand Prix de l'Académie, devienne, au fil des ans, une référence et la mémoire vivante des efforts et des travaux engagés dans le monde entier pour servir la noble cause du Vin.

**Americo Ferreira de AMORIM**

Président du Groupe Amorim

## LAURÉATS DE L'ACADÉMIE AMORIM

**Coup de Cœur 2003 - Gérard LIGER-BELAIR**

*"La physique des bulles de champagne."*



**Grand Prix 2002 - Catherine PEYROT DES GACHONS**

*"Recherches sur le potentiel aromatique des raisins de Vitis vinifera L.cv Sauvignon."*



**Grand Prix 2001 - René SIRET**

*"Etude du polymorphisme génétique de la vigne cultivée (Vitis vinifera L.) à l'aide de marqueurs microsatellites : application à la caractérisation des cépages dans les vins."*

**Coup de Cœur 2001 - Frédéric BROCHET**

*"La dégustation. Etude des représentations des objets chimiques dans le champ de la conscience."*



**Grand Prix 2000 - Takatoshi TOMINAGA**

*"Recherches sur l'arôme variétal des vins de Vitis vinifera L. cv. sauvignon blanc et sa genèse à partir de précurseurs inodores du raisin."*

**Coup de Cœur 2000 - Jean-Pierre GOT**

*"Le verre de vin dans la peinture hollandaise de l'Age d'Or. Les vins de Bergerac et les Provinces-Unis."*



**Grand Prix 1999 - Isabelle CUTZACH-BILLARD**

*"Etude sur l'arôme des vins doux naturels non muscatés au cours de leur élevage et de leur vieillissement. Son origine. Sa formation."*

**Prix Chêne-Liège 1999 - Noël HEYES**

*"La Perméabilité à l'oxygène de la cire de paraffine macrocristalline et sa conséquence sur les traitements de surface des bouchons en liège naturel destinés aux vins tranquilles."*

**Coup de Cœur 1999 - Julien PILLOT & Jean-Christian LAMBORELLE**

*"Le décret du 1<sup>er</sup> décembre 1936 dit "code du vin" : étude critique."*



**Grand Prix 1998 - Virginie MOINE-LEDOUX**

*"Recherches sur le rôle des Mannoprotéines de levure vis à vis de la stabilité protéique et tartrique des vins."*

**Coup de Cœur 1998 - Marie-Laure CHAMUSSY-BOUTEILLE**

*"Colette : un vin d'écrivain."*



**Grand Prix 1997 - Valérie LAVIGNE-CRUEGE**

*"Recherche sur les composés soufrés formés par la levure au cours de la vinification et l'élevage des vins blancs secs."*



**Grand Prix 1996 - Sylvie BIAU**

*"Etude de la matière colorante des vins blancs de Bordeaux."*

**Prix Chêne-Liège 1996 - Guillem ROIG I JOSA - Héctor RIU SAVALL**

**Josep SANCHO I VALLS**

*"Traitement des résidus de l'industrie du liège par la culture des champignons."*



**Mention d'Honneur du Jury 1995 - P.L. TEISSEBRE - A.L. WATERHOUSE**

**R.L. WALZEM - J.-B. GERMAN - E.N. FRANKEL - A.J. CLIFFORD**

*"Composés phénoliques du raisin et du vin et santé."*

**Grand Prix 1995 - Samuel LUBBERS**

*"Etude des interactions entre les macromolécules d'origine levurienne du vin et les composés d'arôme."*



**Grand Prix 1994 - Ziya GÜNATA**

*"Etude et exploitation par voie enzymatique des précurseurs d'arôme du raisin, de nature glycosidique."*



**Grand Prix 1993 - Pierre-Louis TEISSEBRE**

*"Le plomb, du raisin au vin."*



**Grand Prix 1992 - Pascal CHATONNET**

*"Incidence du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins, applications technologiques."*

# A

première vue, le sujet, très analytique,

semblait un peu rébarbatif et son titre un peu austère.

Mais ce travail présente un intérêt théorique et pratique considérable.

La 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine est un marqueur du caractère végétal de l'arôme de certains cépages rouges lorsque leur maturité est insuffisante.

Les travaux de Dominique Roujou de Boubée étudient le caractère herbacé, type « poivron vert », de certains vins rouges, notamment le Cabernet-sauvignon,

considéré dans certains cas comme une caractéristique du cépage, mais assimilé, à Bordeaux, à un défaut dû à un manque de maturité.

Dans son étude, l'auteur étudie la cause de ce défaut et les principaux résultats, exposés avec une grande clarté, aboutissent

à des préconisations viticoles et œnologiques efficaces pour limiter la fréquence et l'intensité de ce défaut olfactif dans les vins.

Etudiant la répartition de l'IBMP dans les différentes parties de la plante, l'auteur fait preuve d'une grande rigueur dans la démarche scientifique.

Ce travail permet ainsi d'élucider de nombreuses observations réalisées sur l'arôme « poivron vert » de certains vins.

Le manque de maturité des raisins, qui conduit à l'obtention de vins médiocres, devrait, dorénavant, être mieux maîtrisé.

Merci à notre lauréat pour ce travail de qualité qui marquera pour longtemps

l'évolution de la connaissance œnologique dans ce domaine.

**Robert TINLOT**

Président de l'Académie Amorim



Recherches sur la  
2-méthoxy-3-isobutylpyrazine  
dans les raisins  
et dans les vins

*Par*

Dominique ROUJOU DE BOUBÉE

*Faculté d'Œnologie, Université de Bordeaux II*



## Introduction

---

Les pyrazines (1,4-diazines) sont des hétérocycles azotés très largement distribués dans la nature, aussi bien dans le règne animal que végétal. Le domaine de l'alimentation reste celui dans lequel les pyrazines sont le plus étudiées. Elles sont considérées comme les composés hétérocycliques les plus largement représentés dans l'arôme des aliments (Vernin and Vernin, 1982). On peut les classer en trois groupes selon leurs origines : formées par traitement à la chaleur, par des microorganismes ou présentes à l'état naturel dans les végétaux. Parmi les méthoxy-pyrazines qui constituent cette dernière catégorie, les plus importantes sont la 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine (IPMP), la 2-méthoxy-3-sec-butylpyrazine (s-BMP) et la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine (IBMP). L'IBMP est mise en évidence pour la première fois dans le poivron vert (*Capsicum annuum* var. *grossum*) par Buttery *et al.* (1969). Son seuil de détection dans l'eau est estimé à 2 ng/L et les auteurs la rendent responsable de l'odeur caractéristique du poivron vert. Elle est ensuite identifiée dans de nombreux légumes crus tels que piment (*Capsicum frutescens*), petit pois (*Phaseolus vulgaris*), fève (*Vicia faba*), laitue (*Lactuca sativa*), épinard (*Spinacea oleracea*), etc. (Murray et Whitfield, 1975). Ces auteurs remarquent pour les autres méthoxy-pyrazines que bien souvent l'une d'entre elles domine chez certaines espèces. C'est le cas de l'IPMP chez l'asperge (*Asparagus officinalis*), le pois (*Pisum sativum*), le concombre (*Cucumis sativus*), la laitue, la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) ou encore le chardon (*Sonchus oleraceus*) ; la s-BMP chez la betterave et la carotte (*Daucus carota sativa*). En 1975, l'IBMP est identifiée pour la première fois dans le raisin de *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon par Bayonove et Cordonnier qui la tiennent pour responsable de l'arôme poivron vert caractéristique de ce cépage. En 1982, Augustyn *et al.* l'identifient à leur tour dans le raisin de *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. Depuis une dizaine d'année environ, sa contribution à l'arôme végétal, poivron vert des vins de Cabernet-Sauvignon, de Merlot et de Sauvignon blanc est démontrée (Harris *et al.*, 1987 ; Maga, 1989 ; Allen *et al.*, 1989 ; Allen *et al.*, 1991 ; Allen *et al.*, 1994 ; Kotseridis *et al.*, 1998 ; Roujou de Boubée *et al.*, 2000). Ces auteurs montrent également que la s-BMP est rarement détectée dans les vins alors que l'IPMP se trouve sous son seuil de détection dans l'eau (2 ng/L). Aussi, la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine apparaît comme la molécule clé impliquée dans le caractère poivron vert des vins de Cabernet-Sauvignon, de Sauvignon blanc et parfois de Merlot, cépages pour lesquels la concentration en IBMP dépasse significativement le seuil de détection.



On peut donc estimer à 15 ng/L d'IBMP le seuil au delà duquel le caractère poivron vert, autrement appelé caractère méthoxypyrazine, est marqué dans les vins rouges de Bordeaux et de Loire, c'est à dire que le type végétal est identifié par les dégustateurs.

Nous avons ensuite réalisé une étude statistique sur 96 vins rouges et blancs de Cabernet-Sauvignon, Cabernet franc, Merlot et Sauvignon blanc afin de déterminer ceux pour lesquels l'IBMP intervient dans l'arôme végétal. Cette étude révèle que l'IBMP contribue majoritairement à l'arôme végétal des vins de Cabernet-Sauvignon, Cabernet franc et Sauvignon blanc. En revanche, cette molécule n'est perceptible que dans une minorité de vins de Merlot.

Maintenant le caractère méthoxypyrazine défini, son seuil fixé et les cépages concernés identifiés, nous nous sommes intéressés à l'évolution de la teneur en IBMP au cours de l'élaboration des vins.

## 1.2. ETUDE DE L'EXTRACTIBILITÉ DE LA 2-MÉTHOXY-3-ISOBUTYLPYRAZINE AU COURS DE LA VINIFICATION. OBSERVATIONS SUR L'ÉVOLUTION DE SA TENEUR DANS LES VINS AU COURS DE LEUR VIEILLISSEMENT EN BOUTEILLE

Des raisins de Sauvignon blanc issus d'une vendange manuelle sont introduits sans éraflage dans un pressoir pneumatique (Bücher, 70 hl). Les jus obtenus par simple écrasement des baies au cours du remplissage du pressoir puis au début du cycle de pressurage (0,2 bar ; 30 min) sont les plus riches en IBMP (tableau 1).

**Tableau 1** : Concentration en IBMP (ng/L) des moûts prélevés aux différents stades du pressurage d'une vendange de Sauvignon blanc (1998).

Stade de pressurage	Lot 1	Lot 2
remplissage	10	10
égouttage 0,2 bar (30 min)	15	10
égouttage 0,2 bar (60 min)	0	0
0,8 bar (90 min)	9	5
1,4 bar (120 min)	9	8
2 bars (140 min)	9	10
2 bars (180 min)	7	10

Les moûts extraits ultérieurement en contiennent moins et comme le volume écoulé est plus faible, leur contribution à la teneur finale en ce composé est moindre. Finalement, la concentration en IBMP des jus extraits diffère peu de celle des premiers jus écoulés lors du remplissage du pressoir. L'IBMP est facilement extractible de la grappe de raisin dès le foulage et le début du pressurage, tout au moins dans le cas d'un pressurage pneumatique de la vendange entière.

Le tableau 2 rapporte l'effet du débouillage sur la teneur en IBMP des moûts.

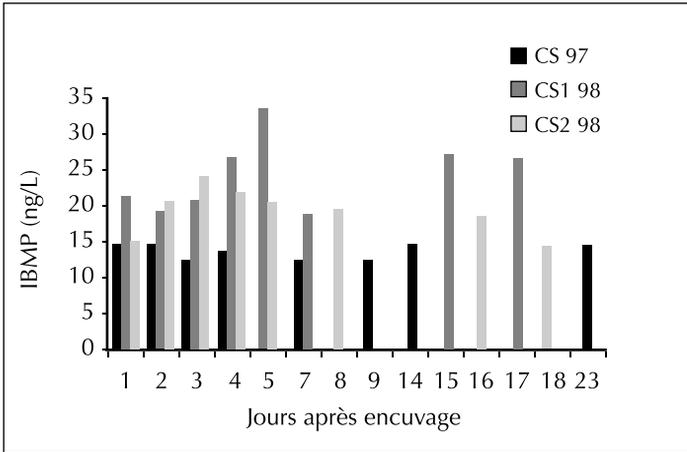
**Tableau 2** : Effet du débouillage sur la concentration en IBMP (ng/L) des moûts de Sauvignon blanc (1998).

	Lot 1	Lot 2
avant débouillage	9	13
après débouillage (200 NTU)	4	6

Les moûts clarifiés (200 NTU) contiennent environ deux fois moins de méthoxypyrazine que les moûts bruts. Une partie de l'IBMP semble associée aux bourbes et donc éliminée par la clarification des moûts. On savait que le débouillage limite le caractère herbacé des moûts blancs en abaissant leurs teneurs en aldéhydes et alcools en C6 (Dubourdieu *et al.*, 1986) et en méthionol (Lavigne, 1996). L'incidence du débouillage sur la teneur en IBMP des moûts n'avait jamais été signalée.

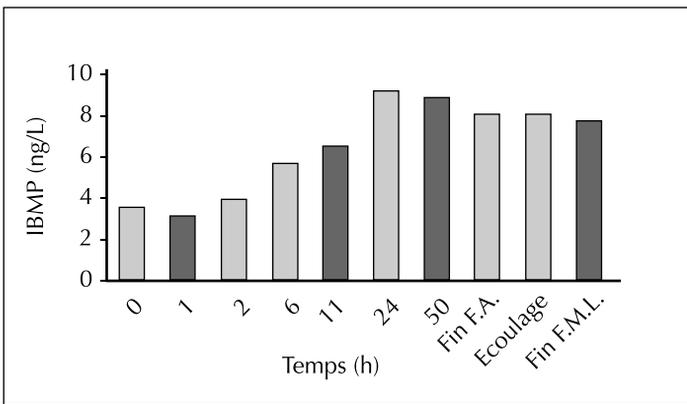
Dans les conditions de la pratique, les teneurs en IBMP du moût de Cabernet-Sauvignon 24 heures après l'encuvage et du vin à la fin de la cuvaison sont peu différentes (figure 2).

La majeure partie de l'IBMP du vin de goutte est donc extraite en phase aqueuse avant fermentation alcoolique.



**Figure 2 :** Evolution de la concentration en IBMP au cours de la vinification des raisins de Cabernet Sauvignon en 1997 (CS 97) et 1998 (CS1 98 et CS2 98).

Dans le but de suivre de manière plus précise la cinétique d'extraction de l'IBMP de la vendange de Cabernet-Sauvignon, une microvinification a été conduite au laboratoire (7 kg de raisin dans des fûts inox de 15 L).



**Figure 3 :** Evolution de la concentration en IBMP au cours de la microvinification des raisins de Cabernet-Sauvignon en 1999 (CS 99).

L'extraction de l'IBMP du raisin dans le moût est encore plus rapide (figure 3). En 24 heures, avant tout départ en fermentation alcoolique, la totalité de l'IBMP retrouvée dans le vin après écoulage est extraite du raisin. Elle n'est accrue ni par les pigeages successifs au cours de la fermentation, ni par la macération post fermentaire. Finalement, la concentration finale du vin après écoulage et soutirage semble peu influencée par la fréquence des remontages ou la durée de cuvaison. Cependant, comme l'observent Kotséridis *et al.* (1999), la teneur en IBMP du vin de presse peut être supérieure à celle du vin de goutte (tableau 3). Ainsi, l'IBMP participe sûrement au caractère végétal souvent accru des vins de presse. Une certaine fraction de l'IBMP associée aux parties solides peut donc être extraite à la faveur des opérations mécaniques du pressurage.

**Tableau 3 :** Evolution de la concentration en IBMP (ng/L) dans les vins de presse de Cabernet-Sauvignon (1998) au cours du cycle de pressurage. Lots 1 et 2.

	Lot 1	Lot 2
début pressurage (0,2 bar)	30	26
pressurage après 1h (0,8 bar)	32	27
pressurage après 2h (2 bars)	16	25

Bien souvent, il a pu être observé que la thermovinification des vendanges rouges (chauffage de la vendange entre 60 et 80 °C sur une courte période pour favoriser l'extraction des composés phénoliques et détruire les oxydases) pouvait entraîner une diminution du caractère végétal de certains vins. Sur les 5 exemples présentés (tableau 4), la thermovinification permet systématiquement de faire chuter la concentration en IBMP sous le seuil de 15 ng/L si bien que le caractère végétal n'est plus perçu dans ces vins. Cette diminution va de 29 à 67% selon les cas.

**Tableau 4** : Influence de la thermovinification sur la teneur en IBMP (ng/L) de 5 vins de Cabernet-Sauvignon.

	Témoin	Thermovinification
Vin 1	28	15
Vin 2	17	12
Vin 3	18	6
Vin 4	18	9
Vin 5	24	13

Nous apportons ainsi l'interprétation analytique d'une observation empirique. Au laboratoire, un moût de Cabernet-Sauvignon supplémenté en IBMP est chauffé au bain marie à 60°C dans un ballon fixé à un évaporateur rotatif sous vide afin de récupérer la fraction volatilisée. Il ressort que l'intégralité de l'IBMP disparue dans le moût est retrouvée dans la partie évaporée, signe que la molécule a été volatilisée lors du chauffage (point d'ébullition de l'IBMP = 50°C). La thermovinification peut présenter un intérêt dans le cas de raisins dont l'optimum de maturité n'est pas atteint, pour diverses raisons (conditions climatiques difficiles, terroirs moins favorables, rendement trop élevé...), ou dans le cas de vendanges atteintes de pourriture. Cette technique permet ainsi d'aboutir à des vins colorés, souples, fruités (type esters) et à l'évidence moins végétaux.

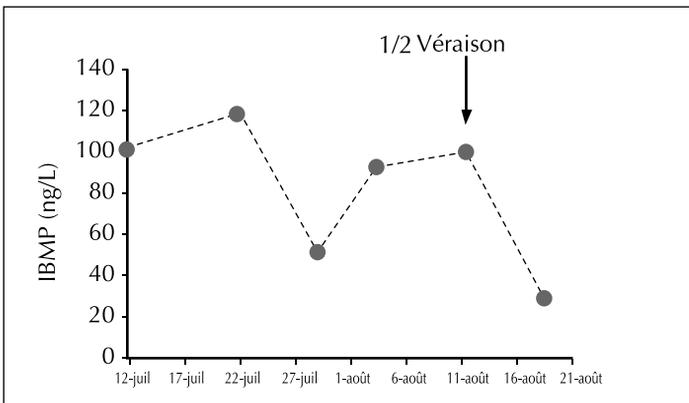
L'évolution de la teneur en IBMP d'un vin de Cabernet-Sauvignon et d'un autre de Sauvignon blanc au cours du vieillissement en bouteille a été mesurée. Après trois années de vieillissement dans une cave à l'abri de la lumière, aucune variation significative n'est enregistrée. La stabilité chimique de cette molécule explique ce résultat. Il ne faut donc pas compter sur le temps pour atténuer ce défaut olfactif en bouteille.

L'arôme des vins de Sauvignon blanc ou des Muscats est déterminé par les conditions de maturation du raisin, mais aussi en grande partie par les conditions de vinifications (Peyrot des Gachons, 2000 ; Günata, 1984). Pour ce qui est des cépages bordelais, nous montrons que l'obtention de vins fruités dépourvus de caractère végétal est essentiellement déterminée par les conditions de maturation du raisin. Cela signifie que pour avoir une faible concentration en IBMP dans les vins, il est impératif de comprendre ce qui se passe avant la récolte. Quel est le métabolisme de l'IBMP chez la vigne ? Dans quel organe trouve-t-on ce composé ? Comment sa concentration évolue-t-elle au cours du cycle reproducteur et quels sont les facteurs qui la régissent ?

## **2. Evolution et localisation de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine dans les différents organes au cours du cycle reproducteur de la vigne**

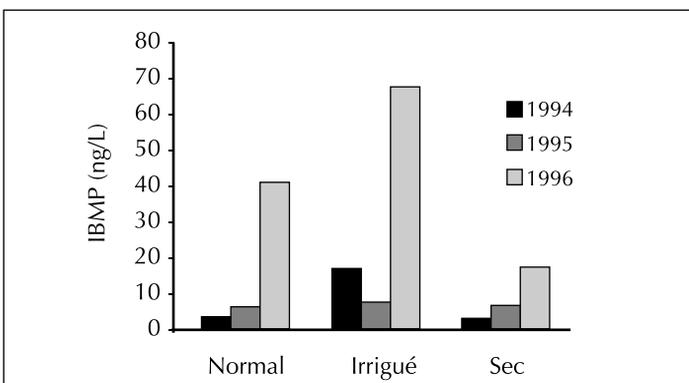
### **2.1. DE LA NOUAISSON À LA VÉRAISON**

Le dosage de l'IBMP dans les baies à un stade précoce (avant la véraison) permet d'observer une phase de synthèse précédant le début de la véraison (figure 4), déjà signalée par Hashizume et Samuta (1999).



**Figure 4** : Evolution de la teneur en IBMP des raisins de Cabernet-Sauvignon depuis la fermeture de la grappe jusqu'à la véraison (1999).

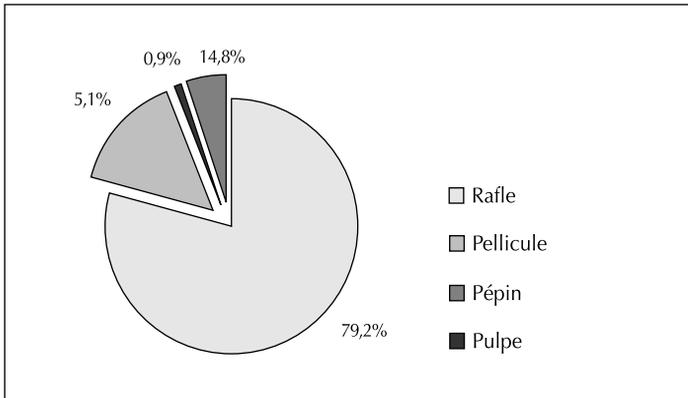
Habituellement, la dégradation de l'IBMP est rapide dans un premier temps puis se ralentit à l'approche de la récolte. Or, en 1999, nous avons constaté sur cette parcelle une remontée de la teneur en IBMP des baies entre le 31 juillet et le 12 août (demi-véraison). Ce phénomène, jamais observé auparavant, est à mettre en relation avec des conditions climatiques particulières. Entre le 27 juillet et le 10 août, la parcelle a reçu environ 180 mm de pluie. Les réserves en eau du sol se sont alors reconstituées et la vigne, proche de l'arrêt de croissance, a recommencé à pousser. Ces observations ponctuelles au vignoble ne nous permettent pas de tirer de conclusions définitives. Toutefois, il semble que la synthèse d'IBMP soit liée à la croissance végétative de la vigne. Ceci pourrait expliquer que les vignes vigoureuses dont l'arrêt de croissance est tardif produisent des raisins renfermant en général des teneurs en IBMP élevées. Ce résultat est d'ailleurs à rapprocher de ceux que nous avons obtenu à partir de l'expérience suivante mise en place par les chercheurs de l'INRA de Bordeaux (Tandonnet *et al.*, 1996). Une parcelle de Cabernet-Sauvignon est soumise à trois niveaux d'alimentation hydrique : normal (conditions du millésime), irrigué (la vigne reçoit 4,6 mm d'eau/jour depuis fin juin jusqu'à fin août) et sec (le sol est bâché depuis fin juin jusqu'à la récolte). Les raisins sont microvinifiés et la concentration en IBMP est déterminée dans les vins en 1994, 1995 et 1996 (figure 5). On constate que l'irrigation entraîne l'augmentation significative de la concentration en IBMP des vins (+79% en 1994 et +39% en 1996 par rapport au vin de la situation « normale »). En 1996, le bâchage au pied de la vigne permet de diminuer la concentration en IBMP du vin résultant de 57% par rapport à la situation « normale ». Peut-être en induisant une plus forte vigueur de la vigne, l'irrigation entraîne-t-elle une synthèse plus importante d'IBMP ?



**Figure 5** : Incidence de différents niveaux d'alimentation hydrique du Cabernet-Sauvignon sur la concentration en IBMP des vins en 1994, 1995 et 1996 (normal : conditions du millésime ; irrigué : 4,6 mm d'eau par jour depuis fin juin jusqu'à la véraison, fin août ; sec : sol bâché sous les pieds de vigne depuis fin juin jusqu'à la maturité).

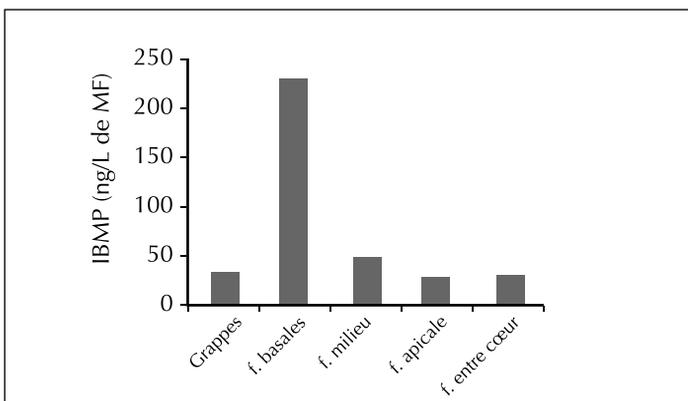
Quoi qu'il en soit, la synthèse d'IBMP semble intervenir entre la nouaison et 2 ou 3 semaines avant le début de la mi-véraison. A ce stade, la rafle renferme une grande proportion d'IBMP (figure 6). A l'échelle de la baie, on en retrouve principalement dans la pellicule (72%) puis

une proportion non négligeable dans les pépins (23,8%). La pulpe quant à elle n'en renferme pratiquement pas (4,2%). Nous retrouvons à ce stade de l'IBMP dans les baies mais sans pouvoir toutefois savoir si elle est synthétisée *in situ*. Or de l'IBMP a été identifié dans les feuilles de Cabernet-Sauvignon lors de la récolte du raisin (Hashizume *et al.*, 1997). Ce résultat permet d'envisager une synthèse de ce composé dans les feuilles. Nous avons donc recherché la présence d'IBMP dans les feuilles à la fermeture de la grappe, après avoir pris soin de les regrouper en fonction de leur insertion sur le rameau. Nous distinguons ainsi sur le rameau primaire les feuilles de la zone basale (les 3 à 4 premières feuilles du bas), les feuilles de la zone intermédiaire et les feuilles de la zone apicale dont la croissance n'est pas achevée.



**Figure 6 :** Localisation de l'IBMP dans les différents constituants de la grappe de Cabernet-Sauvignon avant la véraison (4/08) en 1999.

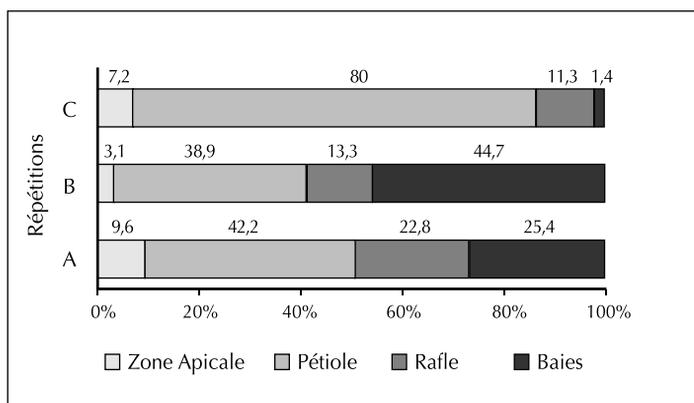
Les feuilles du rameau secondaire (ou entre-cœur) sont également regroupées. Nous montrons tout d'abord que les feuilles renferment effectivement de l'IBMP à ce stade (figure 7). Elles sont donc capables de synthétiser ce composé. Il ressort ensuite que les feuilles basales en contiennent une teneur très élevée, très nettement supérieure à celle des autres feuilles ainsi qu'à celle des grappes.



**Figure 7 :** Teneur en IBMP dans les grappes et les feuilles (f.) à différents niveaux d'insertion sur le rameau du Cabernet-Sauvignon (30/07/1999).

Sachant que beaucoup de produits synthétisés dans les feuilles sont ensuite transportés vers les baies, il nous a paru intéressant de savoir s'il existait un transport de l'IBMP de la feuille vers la grappe. Nous avons utilisé pour cela des boutures fructifères de Sauvignon blanc obtenues selon le protocole décrit par Ollat *et al.* (1998a) et Gény *et al.* (1998). 12 boutures fructifères de Sauvignon blanc (4 boutures x3 répétitions A, B et C) portant chacune une grappe ont été sélectionnées entre le stade petit pois et le début de la véraison pour leur homogénéité (stade physiologique, taille et compacité des grappes). Sur chacune des boutures, 8 feuilles sont prélevées sur toute la longueur du rameau. On dépose sur chacune d'entre elles, dans un réceptacle en plastique, une solution de 2(<sup>3</sup>H<sub>3</sub>)méthoxy-3-isobutylpyrazine (1 mg/L), analogue deutérié de l'IBMP utilisé comme étalon interne pour

le dosage par CG/SM. De l'IBMP deutériée est déposée matin et soir pendant 3 jours. Au quatrième jour, on procède à la récolte. Pour les feuilles ayant reçu la solution d'IBMP deutériée, le limbe est éliminé (pour éviter tout risque de contamination). Seul le pétiole est prélevé. Les feuilles n'ayant pas reçu l'IBMP deutériée (les jeunes feuilles proches de l'apex) ainsi que les apex sont prélevés et réunis. Enfin, les grappes sont récoltées à leur tour. La distribution de l'IBMP deutériée dans le rameau a ainsi été mesurée (figure 8). On constate tout d'abord que de l'IBMP deutériée est détectée dans les pétioles, signe qu'elle a pénétré dans le limbe et qu'elle a été transportée. La grande quantité de méthoxyypyrazine deutériée retrouvée dans les pétioles pour la répétition C (80%) semble indiquer que la molécule déposée sur la feuille n'a pas encore totalement migré vers les autres organes de la plante. On observe également pour les trois répétitions une faible redistribution vers les parties en croissance (jeunes feuilles et apex, toujours inférieure à 10%). Ceci corrobore le fait qu'à ce stade, la grappe constitue un centre d'appel vers lequel les métabolites sont préférentiellement dirigés.

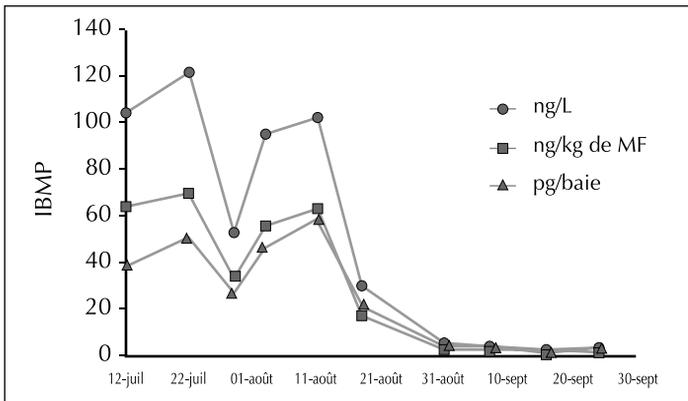


**Figure 8 :** Distribution (en %) pour les 3 répétitions (A, B, C) de l'IBMP deutériée dans le rameau de boutures de Sauvignon blanc après dépôt sur les feuilles et migration. 1 répétition = 4 boutures.

Enfin, on retrouve l'IBMP deutériée dans les rafles puis dans les baies. Nous montrons donc que cette molécule a été transportée par le phloème depuis la feuille jusqu'à la baie. Sachant que les feuilles renferment des teneurs importantes en IBMP au cours de la maturation et que ce composé est susceptible de migrer des feuilles vers les grappes, on peut imaginer que les feuilles constituent une réserve en IBMP susceptible d'alimenter les grappes. On peut d'ailleurs supposer que les baies sont également capables de synthétiser la méthoxyypyrazine. Avant la véraison, la synthèse semble l'emporter sur la dégradation. Peut-être à ce stade les baies n'ont-elles pas encore acquis (ou très faiblement) l'aptitude à dégrader l'IBMP ? Leur teneur en ce composé serait ainsi la résultante du transport depuis les feuilles et de la synthèse *in situ*. Malheureusement, aucune avancée n'a été réalisée dans le domaine de la biosynthèse de l'IBMP chez les plantes si bien que l'origine de ce composé demeure inconnue. Murray *et al.* (1970) émettent l'hypothèse d'une condensation entre le glyoxal (commun à la formation des autres méthoxyypyrazines selon eux) et la leucine (après avoir été amidée). En accord avec cette hypothèse, une étude de la biosynthèse de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine a été entreprise à partir de cultures cellulaires de Cabernet-Sauvignon. Nous montrons pour la première fois l'aptitude d'un cal indifférencié de Cabernet-Sauvignon à synthétiser de l'IBMP. De plus, l'ajout dans le milieu de culture de leucine, précurseur supposé de l'IBMP, accroît sa production par les cellules. Cependant, sur une seule expérience, l'ajout d'isotopes stables (L-leucine- $d_{10}$  et  $^{15}NH_4Cl$ ) n'entraîne pas d'enrichissement isotopique de l'IBMP produite par les cellules. Entre la nouaison et jusqu'à 2 ou 3 semaines avant la demi-véraison, l'IBMP est synthétisée et s'accumule dans les feuilles et/ou dans les baies, peut-être à partir de leucine. Ensuite, cette teneur chute jusqu'à la récolte.

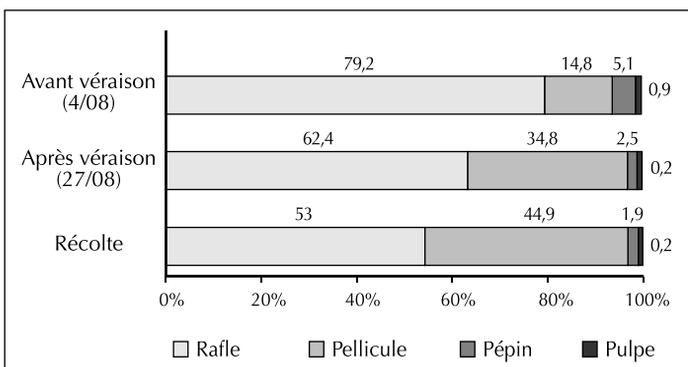
## 2.2. DE LA VÉRAISON À LA MATURITÉ

L'allure des courbes d'évolution de la concentration en IBMP des raisins au cours de la maturation ne varie pas qu'elle soit exprimée en ng/L, en ng/kg de matière fraîche ou en pg/baie (figure 9).



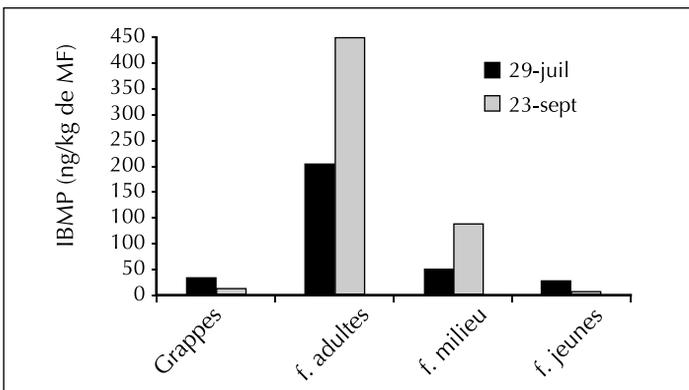
**Figure 9** : Evolution de la teneur en IBMP (exprimée en ng/L, en ng/kg de matière fraîche ou en pg/baie) des raisins de Cabernet-Sauvignon depuis la fermeture de la grappe jusqu'à la récolte (1999). Mi-véraison notée le 11 août.

Ainsi, et contrairement à ce qui se passe pour l'acide tartrique par exemple, la diminution de la teneur en IBMP exprimée en ng/L est indépendante de la dilution encourue par augmentation du volume de la baie au cours de cette période. Cette molécule est réellement dégradée au cours de la maturation. Plusieurs travaux ont mis en évidence une forte relation entre l'exposition des grappes à la lumière et la baisse de leur concentration en IBMP (Allen et Lacey, 1993 ; Noble *et al.*, 1995 ; Hashizume et Samuta, 1999). Ils confirment ainsi les premières études réalisées par Heymann (1986) puis par Maga (1989) : les méthoxy-pyrazines sont dégradées à la lumière. Une étude de la photodégradation de l'IBMP en solution dans un solvant (méthanol, 10% v/v) et dans le vin (blanc et rouge) nous permet de confirmer sa dégradation lorsqu'elle soumise à un rayonnement lumineux de type lumière du jour. Nous montrons ensuite que les produits de sa dégradation (dont la 2-méthoxy-3-méthylpyrazine identifiée comme un intermédiaire réactionnel) sont présents en très faible quantité et ne semblent pas posséder d'impact organoleptique. Jusque là, on aurait pu imaginer qu'un produit de la dégradation de l'IBMP soit impliqué dans l'arôme fin des vins de Cabernet-Sauvignon. En effet, ce cépage exhale la nuance poivron vert lorsqu'il n'est pas mûr, mais dès lors que les conditions le permettent, ce caractère végétal disparaît et seulement alors, l'élaboration d'un grand vin de Cabernet-Sauvignon aux arômes fruités et empyreumatiques est possible. Nos travaux semblent montrer que l'origine de ces arômes n'est pas directement à rechercher dans la dégradation de l'IBMP. Comme nous l'avons vu, avant la véraison, l'IBMP des baies commence à se dégrader. Toutefois, la répartition dans les grappes reste la même tout au long de la maturation (figure 10).



**Figure 10** : Distribution (en %) de l'IBMP dans les différents constituants de la grappe de Cabernet-Sauvignon au cours de la maturation en 1999.

En effet, quel que soit le stade phénologique, la pulpe contient peu d'IBMP et la rafle beaucoup. Mais de la véraison à la récolte, la proportion d'IBMP diminue dans la rafle et augmente dans la pellicule. Elle diminue également légèrement dans les pépins pendant cette période. A la récolte, l'IBMP est principalement localisée dans la rafle. On comprend ainsi que le caractère poivron vert du vin puisse être fortement influencé par la qualité de l'éraflage. Entre le 11 août et le 23 septembre, la teneur en IBMP augmente surtout dans les feuilles de la zone basale et de la zone intermédiaire (figure 11). En fait, la concentration en IBMP des feuilles adultes évolue à l'inverse de celle des raisins. Ce résultat peut paraître paradoxal. Pour des conditions environnementales identiques, l'IBMP s'accumule dans les feuilles alors qu'elle se dégrade dans les raisins au cours de la maturation. Si l'IBMP est dégradée à la lumière, pourquoi les feuilles basales qui en reçoivent autant si ce n'est plus que les grappes voient-elles leur concentration en IBMP augmenter au cours de la maturation ? Tout porte donc à croire que le métabolisme de ce composé est différent dans le fruit et dans la feuille.



**Figure 11** : Teneur en IBMP dans les grappes et les feuilles (f.) à différents niveaux d'insertion sur le rameau au cours de la maturation du Cabernet-Sauvignon (1999).

Compte tenu de ces résultats, on mesure tout l'intérêt de l'effeuillage de la vigne pour diminuer le caractère végétal-poivron vert des raisins. Par une meilleure exposition des raisins à la lumière, il permet d'augmenter la dégradation de l'IBMP ; mais peut être contribue-t-il aussi à une diminution de sa teneur dans les baies en supprimant une source en ce composé susceptible d'alimenter les grappes ?

### 2.3. FACTEURS VITICOLES INFLUENÇANT LA TENEUR EN IBMP DES RAISINS

Dans un premier temps, l'incidence cumulée d'un ensemble de travaux en vert sur la teneur en IBMP des raisins de Cabernet-Sauvignon et de Merlot a été mesurée. Ils comprennent l'ébourgeonnage (entre le débourrement et la floraison), l'élimination des entre-cœurs ou échardage dans la zone des grappes, côté soleil levant (fin nouaison), l'effeuillage dans la zone fructifère, côté soleil levant (à la fermeture de la grappe) et l'éclaircissage pour ramener le rendement vers 50 hL/ha (au début véraison).

**Tableau 5** : Influence des travaux en vert (TV) sur la composition des vins de Merlot (M) et de Cabernet-Sauvignon (CS), 1997.

	TAV % vol	Acidité totale (g/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Rendement (hL/ha)	IPT	Anthocyanes (mg/L)	IBMP (ng/L)
M témoin	11.4	3.1	60	50	257	19
M TV	11.6	3.65	48	56	334	16
CS témoin	11	3.6	58	54	250	18
CS TV	11.2	3.85	46	61	400	11

TAV : Titre Alcoométrique Volumique ; IPT : Indice Polyphénolique Total

Les travaux en vert effectués sur la vigne ont pour conséquence directe de diminuer la teneur en IBMP des raisins de Cabernet-Sauvignon et de Merlot, depuis la véraison jusqu'à la récolte. Le caractère photolabile de l'IBMP permet notamment d'expliquer ce résultat. Les raisins issus de chacune des modalités ont été vinifiés en grandeur réelle (cuves de 311 hl) puis analysés en début d'élevage (tableau 5). Les différences sont plus marquées pour le Cabernet-

Sauvignon. Le vin issu des vignes « essai » (sur lesquelles ont été effectués les travaux en vert) est plus alcoolisé, plus riche en composés phénoliques (+40% d'anthocyanes) et sa teneur en IBMP est nettement plus faible que celle du vin issu des vignes « témoin » (-39 %). Dans ce cas, le vin est nettement marqué par la saveur poivron vert de l'IBMP, alors que dans le vin issu des vignes « essai », l'IBMP n'est pas perceptible. Il est admis que la vigne réagit différemment à une opération en fonction de la date à laquelle elle est pratiquée. Une expérimentation a été menée en 1998 sur Cabernet-Sauvignon et Sauvignon blanc pour mettre en évidence l'incidence du calendrier de certains travaux en vert (« échardage » et effeuillage réalisés dans la zone des grappes, côté soleil levant) sur la teneur en IBMP des raisins à la récolte. Elle nous a permis de tirer les enseignements suivants. Il est généralement important d'effectuer l'« échardage » et l'effeuillage tôt, c'est à dire entre la nouaison et la fermeture de la grappe. Dans ce cas, les raisins à la récolte sont plus riches en sucres, plus petits et contiennent moins d'IBMP (tableau 6). Un effeuillage tardif, s'il parvient à augmenter l'accumulation en sucres dans les raisins, ne permet pourtant pas de faire chuter la teneur en IBMP de manière suffisamment importante (elle est supérieur de 65% par rapport à une vigne « échardée » et effeuillée tôt).

**Tableau 6** : Incidence du calendrier des travaux en vert (différence par rapport au témoin) sur certains constituants de la baie de Cabernet-Sauvignon à la récolte – 1998.

	Vigne « échardée » et effeuillée à la nouaison	Vigne « échardée » nouaison et effeuillée après véraison	Vigne « échardée » et effeuillée après véraison
Poids de baies	-7,4%	-4,4%	+2%
Acidité totale	Pas significatif	Pas significatif	Pas significatif
Sucres réducteurs	+8,5%	+6,7%	+3%
IBMP	-68,4%	-10,5%	=

Il n'y a pas de différences significatives de composition du raisin à la récolte si ces travaux sont effectués à la nouaison ou bien au stade petit pois. Dans les deux cas, cela permet d'améliorer la maturation. D'un point de vue pratique, cela offre une plus grande souplesse pour gérer les opérations en vert dans le temps. Pour « écharder » et effeuiller la vigne, on dispose donc de 15 à 20 jours sans compromettre la qualité finale de la vendange. Passé ce délai, les risques de ramasser un raisin marqué par des notes poivron vert sont accrus. Ces résultats ont été obtenus dans le cas de vignes basses, de densité de plantation élevée (8 550 pieds/ha), mais aussi dans celui de vignes hautes, de faible densité de plantation (3 300 pieds/ha). Un comportement analogue a été enregistré pour le Sauvignon blanc. Ces résultats obtenus en 1998 ne sont pourtant pas confirmés en 1999 où les teneurs en IBMP des raisins à la récolte étaient proches de zéro, pour toutes modalités d'opérations en vert mises en œuvre confondues. 1999 est un millésime atypique, avec de fortes précipitations lors de la véraison qui ont entraîné son étalement et donc une hétérogénéité de maturité des baies. Par la suite, le temps a été variable, des orages faisant place à des périodes chaudes et ensoleillées. Ces conditions météorologiques particulières ont entraîné un fonctionnement de la vigne inhabituel. Nous constatons que la dégradation de l'IBMP était plus lente en 1999 qu'en 1998. La principale différence entre ces deux millésimes réside dans la teneur en IBMP à la mi-véraison : elle est le triple en 1998 pour une même parcelle. Autrement dit, pour des millésimes comme 1998, il est important d'intervenir précocément pour dégrader le plus rapidement possible l'IBMP des raisins. En revanche, en 1999, les interventions précoces sur le feuillage permettent certes d'accélérer au début la dégradation en IBMP, mais à la récolte aucune différence n'est observée avec la modalité témoin du fait de la faible quantité d'IBMP au départ. Ceci prouve que ce ne sont pas tant les conditions climatiques qui règnent pendant la maturation qui importent mais celles qui la précèdent. Il est probable qu'un diagnostic précoce (fin juillet) de la teneur en IBMP des raisins permettrait de décider du bien fondé des travaux en vert pour une parcelle. Bien que 1999 n'ait pas permis de confirmer les observations faites en 1998, l'« échardage » constitue avec l'effeuillage une

des techniques majeures des travaux en vert pour obtenir une vendange de qualité. Cette pratique peu répandue dans le vignoble (car non mécanisable et coûteuse) se révèle intéressante à bien des égards si elle est effectuée tôt (à la nouaison, les entre-cœurs sont peu développés et s'éliminent donc d'autant plus facilement et rapidement) : elle facilite la suite des travaux en vert en supprimant une partie de la végétation dans la zone fructifère; elle améliore l'état sanitaire de la vendange en permettant une meilleure aération des grappes ; elle supprime une partie des centres d'appels et favorise par là même une meilleure redistribution des photosynthétats pour une meilleure maturation du raisin.

## Conclusion

La mise en œuvre d'un protocole original nous a permis de fixer une valeur limite de la concentration en IBMP au delà de laquelle le caractère méthoxy-pyrazine est perçu dans un vin rouge de type Bordeaux. Elle est en moyenne de 15 ng/L. Nous avons pu ainsi préciser la contribution de l'IBMP à l'arôme végétal des cépages bordelais. Elle est majoritaire pour le Cabernet-Sauvignon, le Cabernet franc et le Sauvignon blanc, elle est minoritaire pour le Merlot. Nous montrons ensuite que la teneur en IBMP des vins dépend essentiellement de celle des raisins, elle n'est que marginalement contrôlable par la vinification. Dans le cas d'une vinification traditionnelle, l'IBMP est très extractible, indépendamment du pressurage en blanc ou de la durée de cuvaison et du nombre de remontages en rouge. Seul le débouillage des moûts de Sauvignon blanc et une sélection raisonnée des vins de presse de Cabernet-Sauvignon permettent de limiter la teneur en IBMP des vins. Dans le cas de la thermovinification, le chauffage de la vendange permet de faire chuter significativement la concentration en IBMP par volatilisation du composé. Nous n'observons aucune modification de la concentration en IBMP des vins au cours du vieillissement en bouteille. La concentration en IBMP augmente dans le raisin de la nouaison jusqu'à 2 ou 3 semaines avant le demi véraison. Ce phénomène semble être influencé par l'alimentation hydrique de la vigne avant véraison. L'utilisation de cultures cellulaires de Cabernet-Sauvignon ne nous a pas permis d'expliquer les mécanismes de biosynthèse de l'IBMP. Néanmoins, nous montrons que l'ajout de leucine, précurseur supposé de l'IBMP, accroît sa production. Pendant cette période, l'IBMP est synthétisée dans les feuilles où elle est principalement localisée. On la retrouve ensuite par ordre d'importance dans la rafle, la pellicule et les pépins. La pulpe n'en contient pratiquement pas. A ce stade, nous mettons en évidence pour la première fois un transport de l'IBMP des feuilles vers les grappes. La teneur maximale en IBMP dans le raisin est atteinte avant la véraison. Puis cette molécule commence à se dégrader dans les baies. L'ordre de sa répartition dans les feuilles et dans les grappes reste le même tout au long de la maturation. Cette dégradation est le résultat de la photosensibilité de l'IBMP à la lumière. Toutefois, aucun produit de la photodégradation, dont la 2-méthoxy-3-méthylpyrazine que nous identifions, ne semble posséder d'impact organoleptique. Paradoxalement, alors qu'elle est dégradée dans les raisins, l'IBMP continue de s'accumuler dans les feuilles. Le métabolisme de la méthoxy-pyrazine ne semble pas être le même dans la feuille et dans la grappe. La teneur en IBMP des raisins à la récolte peut être contrôlée par les travaux en vert. Les opérations cumulées d'ébourgeonnage, d'« échardage », d'effeuillage et d'éclaircissage, pratiquées sur Merlot et Cabernet-Sauvignon, entraînent une diminution plus importante de la teneur en IBMP des raisins pendant la maturation. Il est généralement important d'effectuer la suppression des entre-cœurs et l'effeuillage tôt, c'est à dire entre la nouaison et la fermeture de la grappe. Au delà, les risques de ramasser un raisin marqué par des notes poivron vert sont accrus. La comparaison des résultats obtenus en 1998 et 1999 nous permet d'imaginer que la clé du caractère méthoxy-pyrazine des raisins à maturité puisse se trouver dans les conditions climatiques qui règnent à un stade précoce et qui conduisent à une certaine teneur initiale en IBMP des raisins avant véraison.

# Bibliographie

- AERNY J., 1996. Composés azotés des mouls et des vins. *Revue Suisse Arboric. Hortic.*, 28, 161-165.
- ALLEN M.S., LACEY M.J., BROWN W. V. et HARRIS R.L.N., 1989. Occurrence of methoxy-pyrazine in grapes of *Vitis vinifera* cv. cabernet-sauvignon and sauvignon blanc. In *Actualités Œnologiques* 89, Comptes Rendus du IV<sup>e</sup> Symposium d'Œnologie de Bordeaux, Dunod, Paris, 25-30.
- ALLEN M.S., LACEY M.J., HARRIS R.L.N. et BROWN W.V., 1991. Contribution of methoxy-pyrazines to Sauvignon blanc wine aroma. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42, 109-112.
- ALLEN M.S. et LACEY M.J., 1993. Methoxy-pyrazine grape flavour : influence of climate, cultivar and viticulture. *Vitic. Enol. Sci.*, 48, 211-213.
- ALLEN M.S., LACEY M.J. et BOYD S., 1994. Determination of methoxy-pyrazines in red wines by stable isotope dilution gas chromatography mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1734-1738.
- AMRANI-HEMAIMI M., CERNY C. et FAY L. B., 1995. Mechanisms of formation of alkylpyrazines in the Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2818-2822.
- ARNOLD R.A. et BLEDSOE A.M., 1990. The effect of various leaf removal treatments on the aroma and flavor of Sauvignon blanc wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 41, 74-76.
- AUGUSTYN O. P. H., RAPP A. et VAN WYK C. J., 1982. Some volatile aroma component of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 3, 53-60.
- BAYONOVE C., CORDONNIER R.A. et DUBOIS P., 1975. Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de la variété Cabernet-sauvignon ; mise en évidence de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine. *C. R. Acad. Sci. (Paris), Série D.*, 281, 75-78.
- BLANK I., SEN A. et GROSCH W., 1992. Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 195, 239-245.
- BOIDRON J.N., 1966. Essai d'identification des constituants de l'arôme des vins de *Vitis vinifera* L. Premiers résultats. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de l'Université de Bordeaux.
- BOIDRON J.N., CHATONNET P. et PONS M., 1988. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Conn. Vigne et Vins*, 22, 275-294.
- BOISON J.O.K., et TOMLINSON R.H., 1990. New sensitive method for the examination of the volatile flavour fraction of Cabernet-sauvignon wines. *J. Chromatogr.*, 522, 315-327.
- BOISSONNET E., 1997. Incidence du climat, des sols et du comportement de la vigne sur les caractères analytiques et organoleptiques des vins rouges du Haut-Médoc. Relation avec la maturation du raisin. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.
- BRANAS J., 1974. Viticulture. Imprimerie Déhan, Montpellier.
- BROCHET F., 1995. Dosage de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine dans les vins de Bordeaux. Mémoire de DEA. Université de Bordeaux II.
- BROCHET F., 2000. La dégustation. Etude des représentations des objets chimiques dans le champ de la conscience. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.
- BUTTERY R.G., SEIFFERT R.M., GUADAGNI, D.G. et LING L.C., 1969. Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *J. Agric. Food Chem.*, 17, 1322-1327.
- BUTTERY R.G., 1981. Vegetable and fruit flavors. In *Flavor research - Recent advances*. Marcel Dekker ed., New York, 175-216.
- CALO A., DI STEFANO R., COSTACURTA A. et CALO G., 1991. Caratterizzazione di Cabernet franc e Carmenère (*Vitis* sp.) e chiarimenti sulla loro coltura in Italia. *Riv. Vitic. Enol.*, 3, 3-25.
- CANTALEJO M.J., 1997. Analysis of volatile components derived from raw and roasted earth-almond (*Cyperus esculentus* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1853-1860.
- CASTELL C.H., GREENOUGH M.F. et JENKIN N.L., 1957. The action on *Pseudomonas* on fish muscle : 2. Musty and potato-like odours. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 14, 775-782.
- CHAMPAGNOL F., 1984. Eléments de physiologie de la vigne et de viticulture générale. Champagnol F. Ed., Saint Gély du Fesc.
- CHENG T.B., REINECCIUS G.A., BJORLUND J.A. et LETTE E., 1991. Biosynthesis of 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine in *Pseudomonas perolans*. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1009-1012.
- COOMBE B.G., 1992. Research on development and ripening of the grape berry. *Am. J. Enol. Vitic.*, 43, 101-110.
- CRIPPEN D.D. J.-R. et MORRISON J.-C., 1986a. The effects of sun exposure on the compositional development of Cabernet Sauvignon berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 235-242.
- CRIPPEN D.D. J.-R. et MORRISON J.-C., 1986b. The effects of sun exposure on the phenolic content of Cabernet Sauvignon berries during development. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 243-247.
- CROUZET J., 1986. Les enzymes et les arômes des vins. *Rev. Fr. Œnol.*, 102, 42-49.
- CZERNY M., WAGNER R. et GROSCH W., 1996. Detection of odor-active ethylalkylpyrazines in roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 3268-3272.
- DECENDIT A. et MERILLON J.-M., 1996. Condensed tannin and anthocyanin production in *Vitis vinifera* cell suspension cultures. *Plant Cell Reports*, 15, 762-765.
- DECENDIT A., RAMAWAT K.G., WAFFO TEGUO P., DEFIEUX G., BADOC A. et MERILLON J.-M., 1996. Anthocyanins, catechins, condensed tannins and piceid production in *Vitis vinifera* cell bioreactor cultures. *Biotechnol. Lett.*, 18, 659-662.
- DI STEFANO R. et MAGGIO R., 1993. Différence entre la composition terpénique des cépages aromatiques. In *Connaissance aromatique des cépages et qualité des vins*. Actes du Symposium international, Montpellier, 9-10 février 1993, *Rev. Fr. Œnologie Ed.*, 107-112.
- DUBOURDIEU, D. : OLLIVIER, CH. et BOIDRON, J.N., 1986. Incidence des opérations préférentielles sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs. *Conn. Vigne Vin*, 20, 117-139.
- DUMONT J.-P., ROGER S. et ADDA J., 1974a. Volatile composition of whole and grated Parmesan cheese. *Le Lait*, 54, 386-396.
- DUMONT J.-P., ROGER S., CERF R. et ADDA J., 1974b. Etude de composés volatils neutres présents dans le Vacherin. *Le Lait*, 54, 243-251.
- DUMONT J.-P., ROGER S. et ADDA J., 1975. Mise en évidence d'un composé à hétérocycle azoté responsable d'un défaut d'arôme dans le Gruyère et le Comté. *Le Lait*, 55, 479-487.
- DUMONT J.-P., MOURGUES R. et ADDA J., 1983. Potato-like off flavor in smear coated cheese : a defect induced by bacteria. In *Sensory quality in foods and beverages : definition, measurement and control*, WILLIAMS A.R., Atkins R.K. Eds. Ellis Horwood Limited, 424-428.
- DUTEAU J., 1982. Alimentation en eau de la vigne dans le Bordelais en période estivale sèche. Exemple de l'année 1980 à Saint Emilion et Pomerol. *Sci. Sol*, 1, 15-29.
- EMDE K.M.E., BEST N. et HRUDEY S.E., 1992. Production of the potent odour agent, isopropyl methoxy-pyrazine, by *Lyso-bacter* enzymogenes. *Environmental Technol.*, 13, 201-206.
- ENGEN T., 1971. Psychophysics. In *Experimental Psychology*, KLING J.W. et RIGGS L.A. Eds., Holt, Rinehart ans Winston, New York.
- FIRMENICH et CIE, 1965. Brevet français n° 1.391.212 (25 janvier 1965).
- FORS S., 1987. Alkylpyrazines - Flavour compounds in foods. Odour characteristics of pure alkylpyrazines and their role in treated malt. PhD Thesis, Département de Food Science, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden.
- GALET P., 1993. Précis de Viticulture, 6<sup>ème</sup> édition. Imprimerie Déhan, Montpellier.
- GALLOIS A., 1984. Les pyrazines présentes dans les aliments - état actuel de nos connaissances. *Sci. Aliments*, 4, 145-166.
- GALLOIS A., KERGOMARD A. et ADDA J., 1988. Study of the biosynthesis of 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine produced by *Pseudomonas taetrolans*. *Food Chem.*, 28, 299-309.
- GALLOIS A. et GRIMONT P.A.D., 1985. Pyrazines responsible for the potato-like odor produced by some *Serratia* and *Cedecea* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, 1048-1051.
- GAMBORG O.L., MILLER R.A. et OJIMA K., 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.*, 50, 151-156.
- GENY L., OLLAT N. et SOYER J.-P., 1998. Les boutures fruitières de vigne : validation d'un modèle d'étude de la physiologie de la vigne. II. Etude du développement de la grappe. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 32, 83-90.
- GERBER N.N., 1977. Three highly odorous metabolites from an actinomycete : 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine, methylisoborneol and geosmin. *J. Chem. Ecol.*, 3, 475-482.
- GONZALO S.R. et KLIEWER W.M., 1983. Estimation of leaf area of two grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) using lamina linear measurements and fresh weight. *Am. J. Enol. Vitic.*, 34, 221-226.
- GÜNATA Z.Y., 1984. Recherche sur la fraction liée de nature glycosidique de l'arôme du raisin : importance des terpénylglycosides, action des glycosidases. Thèse Docteur-Ingénieur. Université des Sciences et Techniques du Languedoc.
- HALE C.J. et WEAVER R.J., 1962. The effect of development stages on direction of translocation of photosynthate in *Vitis vinifera*. *Hilgardia*, 35, 89-131.
- HARRIS R.L.N., LACEY M.J., BROWN W.V. et ALLEN M.S., 1987 : Determination of 2-méthoxy-3-alkylpyrazines in wine by gas chromatography/mass spectrometry. *Vitis*, 26, 201-207.
- HASHIZUME K. et UMEDA N., 1996. Methoxy-pyrazine content of Japanese red wines. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 802-805.
- HASHIZUME K. et SAMUTA T., 1997. Green odorant cluster and their ability to cause a wine stemmy flavor. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1333-1337.
- HASHIZUME K., KIDA S. et SAMUTA T., 1998. Effect of stream treatment of grape cluster stems on the methoxy-pyrazine, phenolic, acid and mineral content of red wines fermented with stems. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4382-4386.
- HASHIZUME K. et SAMUTA T., 1999. Grape maturity and light exposure affect berry methoxy-pyrazine concentration. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50, 194-198.
- HEYMANN H., 1986. Studies of methoxy-pyrazines and vegetative flavor of Cabernet Sauvignon wines. PhD Thesis, University of California, Davis.
- HUFFMAN V.L., SCHADLE E.R., VILLALON B. et BURNS E.E., 1978. Volatile components and pungency in fresh and processed jalapeno peppers. *J. Food Sci.*, 43, 1809-1811.
- IACONO F., BERTAMINI, M., SCIENZA A. et COOMBE B.G., 1995. Differential effects canopy manipulation and shading of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon. Leaf gas exchange, photosynthetic electron transport rate and sugar accumulation in berries. *Vitis*, 34, 201-206.
- JOSLIN W.S. et OUGH C.S., 1978. Cause and fate of certain C<sub>6</sub> compounds formed enzymatically in macerated grapes leaves during harvest and wine fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.*, 29, 11-17.
- KARAHADIAN C., JOSEPHSON D.B. et LINDSAY R.C., 1985. Volatile compounds from *Penicillium* sp. Contributing musty-earthy notes to Brie and Camembert cheese flavors. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 339-343.
- KLIEWER W., 1991. Methods for determining the nitrogen status of vineyard. In *Proceedings of the Int. Symposium on nitrogen in grapes and wines*, RANTZ J. Ed. Am. Soc. Enol. Vitic., Davis, 133-147.
- KOBLET W., 1969. Translocation des produits assimilés dans des pousses de vigne et influence de la surface de la feuille sur la qualité et la quantité de raisin. *Die Wein-Wissenschaft*, 8-9, 277-319.
- KOBLET W., 1975. Translocation des produits d'assimilation des différentes feuilles de la vigne pendant la maturation des raisins. *Die Wein-Wissenschaft*, 5, 241-249.
- KOTSERIDIS Y., ANOCIBAR BELOQUI A., BERTRAND A. et DOAZAN J.-P., 1998. An analytical method for studying the volatile compounds of merlot noir clone wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 49, 44-47.
- KOTSERIDIS Y., ANOCIBAR BELOQUI A., BAYONOVE C., BAUMES R. L. et BERTRAND A., 1999. Effect of selected viticultural and enological factors on levels of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine in wines. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 33, 19-23.
- KRISA S., 1999a. Production d'anthocyanes et de stilbènes par culture cellulaire de *Vitis vinifera*. Marquage au <sup>13</sup>C et

# Bibliographie

- études biologiques. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.
- KRISA S., LARRONDE F., BUDZINSKI H., DECENDIT A., DEFIEUX G. et MERILLON J.-M., 1999b. stilbene production by *Vitis vinifera* cell suspension cultures : methyl jasmonate induction and <sup>13</sup>C biolabelling. *J. Nat. Prod.*, 62, 1688-1690.
- LACEY M.J., ALLEN M.S., HARRIS R.L.N. et BROWN W.V., 1991. Methoxypyrazines in Sauvignon blanc grapes and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 42, 103-108.
- LAUVIGNE-CRUEGE V., 1996. Recherches sur les composés soufrés volatils formés par la levure au cours de la vinification et de l'élevage des vins blancs secs. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.
- LAUVIGNE-CRUEGE V., CUTZACH I. et DUBOURDIEU D., 1999. Interprétation chimique du vieillissement aromatique defectueux des vins blancs. Incidence des modalités d'élevage. In *Œnologie 99, 6<sup>ème</sup> Symposium International d'Œnologie*. Edition Tec & Doc, Paris, 433-438.
- MACLEOD G. et COPPOCK B.M., 1977. Comparison of the chemical composition of boiled and roasted aromas of heated beef. *J. Agric. Food Chem.*, 25, 113-117.
- MAGA J.A., et SIZER C.E., 1973. Pyrazines in foods. A Review. *J. Agric. Food Chem.* 21, 22-30.
- MAGA J.A., 1989. Sensory and stability properties of added methoxypyrazines to model and authentic wines. In *Flavors and off-flavors, Proceedings of the 6<sup>th</sup> international flavor conference*. Charalambous, G. Ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands., 61-70.
- MAGA J.A., 1992. Pyrazine update. *Food Reviews International*, 4, 479-558.
- MAGALETTA R.L. et HO C.T., 1996. Effect of roasting time and temperature on the generation of nonvolatile (polyhydroxyalkyl) pyrazine compounds in products, as determined by high performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 44, 2629-2635.
- MARAIS J. et SWART E., 1999. Sensory impact of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine and 4-mercaptopent-4-méthylpentan-2-one added to a neutral Sauvignon blanc wine. *S. Afric. J. Enol. Vitic.*, 20, 77-79.
- MCIVER R.C. et REINECCIUS G.A., 1986. Synthesis of 2-méthoxy-3-alkylpyrazines by *Pseudomonas perolens*. In *Biogeneration of aromas*, PARLIMENT T.H. and CROTEAU R. Eds., Washington D.C.
- MERMET G., CROS E. et GEORGES G., 1992. Etude préliminaire de l'optimisation des paramètres de torréfaction du cacao. Consommation des précurseurs d'arôme, développement des pyrazines, qualité organoleptique. *Café Cacao Thé*, XXXVI, 285-290.
- MILLER III A., SCANLAN R. A., LEE J. S., LIBBEY L. M. et MORGAN M. E., 1973. *Appl. Microbiol.*, 25, 257-261.
- MOREL G., 1970. Le problème de la végétation tumorale chez les végétaux. *Physiol. Vég.*, 8, 189-191.
- MORGAN M.E., 1976. The chemistry of some microbially induced flavor defects in milk and dairy foods. *Biotechnol. and Bioengin.*, 18, 953-964.
- MORRISON J.-C. ET NOBLE A.C., 1990. The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *Am. J. Enol. Vitic.*, 41, 193-199.
- MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, 473-497.
- MURRAY K.E., SHIPTON J. et WHITEFIELD F.B., 1970. 2-méthoxy-pyrazines and the flavour of green peas (*Pisum sativum*). *Chem. and Ind.*, 897-898.
- MURRAY K. E., WHITFIELD F. B., 1975. The occurrence of 3-alkyl-2-méthoxy-pyrazines in raw vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 973-986.
- NOBLE A.C., 1978. Sensory and instrumental evaluation of the aroma. In *Analysis of foods and beverages*, Charalambous G. Ed., Academic press : New York, 203-228.
- NOBLE A.C., ELLIOT-FISK D.L. et ALLEN M.S., 1995. In *Fruit flavors : biogenesis characterization and authentication*, ROUSEFF R.L. and LEAHY M.M., Eds., ACS Symposium series 596, American Chemical Society : Washington, D.C., 226-234.
- NURSTEN H.E. et SHEEN M.R., 1974. Volatile flavor components of cooked potato. *J. Sci. Fd. Agric.*, 25, 643-663.
- OLLAT N., GENY L. et SOYER J.-P., 1998. Les bourettes fructifères de vigne : validation d'un modèle d'étude de la physiologie de la vigne. II. Principales caractéristiques de l'appareil végétatif. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 32, 1-9.
- OLLAT N. et GAUDILLERE J.-P., 1998. The effect of limiting leaf area during stage I of berry growth on development and composition of berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.*, 49, 251-258.
- PIERI PH., OLLAT N. et TANDONNET J.-P., 1996. Growth of vines and maturation of berries as influenced by the soil water balance. In *Œnologie 95, 5<sup>ème</sup> Symposium International d'Œnologie*. Edition Tec & Doc, Paris, 68-71.
- RAPP A. HASTRICH H. et ENGEL L., 1976. Gas chromatographic investigations on the aroma constituents of grape berries. I. Concentration and separation by capillary glass columns. *Vitis*, 15, 29-36.
- RIBEREAU-GAYON P. et STONESTREET E., 1965. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 9, 2649-2652.
- RIBEREAU-GAYON P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chimie Analytique*, 52, 627-631.
- RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B. et LONVAUD A., 1998. In *Traité d'œnologie, Tome 1 : Microbiologie du vin, vinifications*, Dunod, Paris, 471-473.
- ROJAS-LARA B.A. et MORRISON J.-C., 1989. Differential effects of shadon fruit or foliage on the development and composition of grape berries. *Vitis*, 28, 199-208.
- ROUJOU DE BOUBÉE D. et DUBOURDIEU D., 1999. Incidence des conditions de maturation et des pratiques viticoles sur la maturation des raisins de Cabernet-Sauvignon et de Merlot à Bordeaux. In *Œnologie 99, 6<sup>ème</sup> Symposium International d'Œnologie*. Edition Tec & Doc, Paris, 126-130.
- ROUJOU DE BOUBÉE D., VAN LEEUWEN C. et DUBOURDIEU D., 2000. Organoleptic impact of 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *J. Agric. Food Chem.* 48:4830-4 (2000).
- SEGUIN G., 1970. Les sols de vignobles du Haut-Médoc. Influence sur l'alimentation en eau de la vigne et sur la maturation du raisin. Thèse Doctorat d'Etat, Faculté des Sciences de l'Université de Bordeaux II.
- SEGUIN G., 1975. Alimentation en eau de la vigne et composition chimique des moûts dans les grands crus du Médoc. Phénomène de régulation. *Conn. Vigne Vin*, 9, 23-34.
- SKOUDOUMOUNIS G.K. et WINTERHALTER P., 1994. Glycosidically bound norisoprenoids from *Vitis vinifera* cv. Riesling leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1068-1072.
- SLINGSBY R.W., KEPNER R.E., MULLER C.J. et WEBB A.D., 1980. Some volatile components of *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 31, 360-363.
- SPAYD S., WAMPLE R., STEVENS R., EVANS R. et NAGEL C., 1993. Nitrogen fertilization of white Riesling grapes in Washington. Effects on petiole nutrient, yield components and vegetative growth. *Am. J. Enol. Vitic.*, 44, 378-386.
- TANDONNET J.-P., OLLAT N., NEVEUX M. et RENOUX J.-L., 1996. Effect of three levels of water supply on the vegetative and reproductive development of merlot and Cabernet Sauvignon grapevines. In *Proceedings of 1<sup>st</sup> ISHS workshop on water relations of grapevines*, RUHL E.H., SCHMID J. Eds. *Acta Hort.* 493, 301-307.
- TOMKIN R.B. et SHAPARIS A.B., 1972. Potato aroma of lamb carcasses. *Appl. Microbiol.*, 24, 1003-1004.
- TYLER L.D., ACREE T.E., BECKER R.F., NELSON R.R. et BUTTS R.M., 1978. Effect of maturity, cultivar, field history and the operations of peeling and coring on the geomimic content of *Beta vulgaris*. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 1466-1469.
- VAN LEEUWEN C., 1991. Le vignoble de Saint Emilion : répartition des sols et fonctionnement hydrique ; incidence sur le comportement de la vigne et la maturation du raisin. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.
- VAN LEEUWEN C., FRIANT PH., SOYER J.-P., MOLOT CH., CHONE X. et DUBOURDIEU D., 2000. L'intérêt du dosage de l'azote total et de l'azote assimilable dans le moût comme indicateur de la nutrition azotée de la vigne. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 34, 75-82.
- VERNIN G. et VERNIN G., 1982. Heterocyclic aroma compounds in foods : occurrence and organoleptic properties. In *Chemistry of heterocyclic compounds in flavours and aromas*, VERNIN G. Ed., Ellis Horwood Limited, England, 72-150.
- WAFFO TEGUO P., DECENDIT A., VERCAUTEREN J., DEFIEUX G. et MERILLON J.-M., 1996. *Trans-resveratrol-3-O-β-glucoside* (piceid) in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. *Phytochemistry*, 42, 1591-1593.





ACADEMIE MORIM

11, Villa Wagram Saint-Honoré - 75008 Paris - France  
Tel : 01 58 05 10 70 - Fax : 01 58 05 10 71 - Email : [contact@academie-amorim.com](mailto:contact@academie-amorim.com)

**L'Académie AMORIM est sur INTERNET**  
[www.academie-amorim.com](http://www.academie-amorim.com)

GREENWICH  
ENGLISH