

G R A N D P R I X 1 9 9 5

Samuel LUBBERS

ETUDE DES  
INTERACTIONS  
entre les  
macromolécules  
d'origine  
levurienne du vin  
et les composés  
d'arôme.

# 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 oenologie en créant l'Académie Amorim, un lieu de rencontre et d'échange entre oenologues, ingénieurs, professeurs, sommeliers, auteurs, artistes... tous animés d'une même passion du Vin.

Chaque année, notre Académie encourage et soutient la recherche en oenologie 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 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

### Grand Prix 1992

Pascal CHATONNET  
Institut d'oenologie de Bordeaux.  
"Incidence du bois de chêne  
sur la composition chimique  
et les qualités organoleptiques des vins,  
applications technologiques".

### Grand Prix 1993

Pierre-Louis TEISSEBRE  
Centre de Formation et de Recherche  
en oenologie de Montpellier.  
"Le plomb, du raisin au vin".

### Grand Prix 1994

Ziya GÜNATA  
INRA Institut des Produits  
de la Vigne de Montpellier  
«Étude et exploitation par voie  
enzymatique  
des précurseurs d'arôme du raisin,  
de nature glycosidique».

### Grand Prix 1995

Samuel LUBBERS  
Institut de la Vigne et du Vin Jules GUYOT,  
Université de Bourgogne  
«Étude des interactions entre les  
macromolécules d'origine levurienne du  
vin et les composés d'arôme»

### Mention d'Honneur du Jury 1995

P.L. TEISSEBRE - A.L. WATERHOUSE  
R.L. WALZEM - J.B. GERMAN  
E.N. FRANKEL - A.J. CLIFFORD  
Université de Californie, Davis.  
«Composés phénoliques

**D**epuis 1991, date de création de l'Académie AMORIM,

nous avons la lourde responsabilité, chaque année,  
de récompenser les travaux d'un jeune chercheur  
dédiés à l'amélioration de l'expression du vin et de son bon usage.

Après l'Institut d'Oenologie de Bordeaux en 1992,  
l'Institut d'Oenologie de Montpellier en 1993, l'INRA en 1994,  
c'est la Bourgogne et l'Université de Dijon qui sont récompensés  
à travers les travaux de Samuel LUBBERS.

Parmi les ouvrages en compétition, tous d'une grande richesse,  
nous avons jugé que son étude, apparentée à la recherche  
fondamentale et de ce fait associée au produit,  
pouvait apporter des réponses et des solutions  
pour contribuer à l'amélioration de la qualité du vin  
dont l'élaboration restera toujours un art.

Mais cette année nous avons tenu à remarquer  
par une Mention d'«Honneur» les travaux d'une équipe,  
réunissant par delà les océans des chercheurs américains  
et français, qui nous a présenté des travaux  
sur les liens controversés du vin et de la santé.

Cette année encore, le vin a fait couler beaucoup d'encre,  
merci aux candidats et aux membres du jury,  
et longue vie à l'Académie AMORIM

Jacques PUISAIS  
Président de l'Académie Amorim

ETUDE DES INTERACTIONS  
entre les macromolécules  
d'origine levurienne du vin  
et les composés d'arôme.

*Synthèse de la thèse présentée pour obtenir  
le grade de Docteur de l'Université de Bourgogne  
en sciences des Aliments.*

Samuel LUBBERS

## **De très nombreux composés volatils ont été identifiés dans le vin mais ils ne peuvent à eux seuls expliquer la complexité et l'intensité aromatique du vin.**

Ainsi, l'élimination excessive de constituants non volatils, tels que les macromolécules du vin: polysaccharides, protéines, glycoprotéines, ayant le raisin et les levures pour origine, a une incidence négative sur certains caractères sensoriels comme la persistance aromatique. Ces observations ont permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle les macromolécules du vin peuvent jouer un rôle non négligeable sur les caractéristiques organoleptiques, notamment aromatiques du vin. La recherche d'interactions entre des composés d'arôme et des macromolécules du vin et plus spécifiquement les macromolécules d'origine levurienne a donc été engagée.

L'étude des interactions arômes-macromolécules, directement dans le vin n'est pas envisageable

étant donné la complexité du produit. L'utilisation d'un système modèle est nécessaire pour pouvoir analyser de façon discriminante les phénomènes.

La caractérisation des différents constituants du système : composés d'arôme, macromolécules, est également indispensable pour l'interprétation des résultats expérimentaux.

Nous avons donc isolé, purifié et caractérisé des macromolécules d'origine levurienne issues de différents milieux : vin, milieu de fermentation synthétique, autolysat de levures. La recherche des interactions entre ces macromolécules et les composés d'arôme a été menée par des méthodes instrumentales. Les deux méthodes retenues sont fondées sur l'étude des équilibres thermodynamiques liquide-vapeur pour l'analyse headspace et liquide-liquide pour la méthode de dialyse à l'équilibre.

### **Isolement et caractérisation des macromolécules d'origine levurienne**

---

Les macromolécules d'origine levurienne dans les vins proviennent d'une part d'une libération de glucanes et de mannoprotéines issus de la paroi de la levure lors de la multiplication levurienne, durant la

fermentation alcoolique et d'autre part, de la dégradation de la paroi de la levure au cours de l'autolyse.

L'isolement de macromolécules d'origine levurienne directement dans le vin sans contamination

par les polysaccharides du raisin nécessite l'utilisation de nombreuses techniques chromatographiques, notamment pour séparer les polysaccharides pectiques neutres (galactanes et arabino-galactanes) des glucanes des levures ainsi que pour fractionner les polymères chargés, pectines acides du raisin et mannoprotéines de levures. Afin d'éviter ces contaminants, nous avons donc travaillé sur milieu synthétique pour obtenir directement des macromolécules de levures. Un milieu de composition proche de celle du jus de raisin a été utilisée pour obtenir les macromolécules exocellulaires cédées par les levures au cours de la fermentation alcoolique (extrait FERM).

Les macromolécules obtenues après l'autolyse de levures dans des conditions simulant l'élevage sur lies constituent un mélange de polysaccharides (80 à 90% de la matière sèche) et de protéines. Cette composition est peu différente quantitativement de celle de l'extrait FERM ou de la fraction macromoléculaire d'un vin élevé sur lies. Nous avons donc cherché à obtenir un extrait plus riche en protéines, à partir d'autolysats de levures entières obtenus dans des conditions ménagées afin de préserver les protéines (autolysat A12).

La fraction macromoléculaire d'un vin de Meursault ayant subi douze mois d'élevage sur lies a également été isolée pour comparaison avec les extraits obtenus sur milieux synthétiques.

Les macromolécules isolées ont toutes comme origine la paroi de la levure. Dans le cas des rétentats de vin de Meursault, les macromolécules issues de la levure sont en mélange avec des résidus de polysaccharides issus du raisin. Nous n'avons pas effectué de fractionnement avec cet extrait car il était plus avantageux d'obtenir les macromolécules de levures recherchées sur un milieu synthétique.

L'isolement de macromolécules d'origine levurienne à partir de ce milieu synthétique permet d'obtenir en fait, des extraits de composition similaire aux macromolécules qui sont extraites directement du vin.

Quelle que soit la technique chromatographique utilisée, du glucane est toujours étroitement associé aux mannoprotéines que nous avons isolées et constitue au plus 15% de la matière sèche.

La chromatographie d'affinité sur concanaviline A, nous a permis d'isoler des fractions essentiellement constituées de mannoprotéines de haute masse moléculaire mais néanmoins, malgré la spécificité de la méthode utilisée, des traces de glucane sont présentes avec ces molécules.

L'extrait FERM constitué des macromolécules libérées naturellement par les levures durant la fermentation est essentiellement constitué de mannoprotéines de haute masse moléculaire et de glucane (*Tableau 1*). Des mannoprotéines présentant des teneurs en protéine élevées ont été mises en évidence. Ce type de matériel représente un peu plus de 10% de la matière sèche de ces extraits.

L'autolyse de levures entières de courte durée permet d'obtenir un extrait de composition très différente par rapport à celle de l'extrait FERM, notamment pour la teneur en protéines. Nous avons isolé par chromatographie sur Sepharose CL 6B trois types de molécules de nature nettement définie : des mannoprotéines de haute masse moléculaire issues de la paroi; du glucane; des molécules issues de la dégradation des endostructures cellulaires de masse moléculaire plus réduite (protéines glycosylées et non glycosylées).

Ce type de composé ne se trouve pas dans le vin. En effet, dans le cas d'autolyse longue, la protéolyse

se poursuivant, on a alors un enrichissement du vin en peptides plus courts, parallèlement à une augmentation de la quantité de manno-protéines d'origine pariétale.

Nous avons donc isolé, purifié et caractérisé différentes macromolécules d'origine levurienne qui possèdent des caractéristiques biochimiques différentes, notamment pour leur teneur en protéines et pour leur masse moléculaire. Les fractionnements de ces extraits, par différentes chromatographies sur gel, ont permis d'obtenir des fractions de composition

homogène et caractérisées pour la plupart. L'ensemble de ces substrats a été étudié en présence de composés d'arôme afin de mettre en évidence et de quantifier des interactions pouvant expliquer le rôle de ces macromolécules sur la qualité aromatique du vin. La paroi de la levure qui est à l'origine de toutes ces macromolécules a également été étudiée.

L'étude des interactions entre ces macromolécules en mélange ou purifiées avec des composés d'arôme a été effectuée par des méthodes instrumentales.

**Tableau (1)** : Composition en macromolécules des extraits FERM et A12 (% de chaque type de molécule dans l'extrait).

	Peptidomannanes 10% protéines	Mannoprotéines 60% protéines	Protéines* 85% protéines	Glucane
FERM	73	14	nd	13
A12	10	21	49	20

(\*) protéines faiblement glycosylées ou non glycosylées.

## Etude des interactions entre les macromolécules de levures et des composés d'arôme.

### DÉTERMINATION DU COEFFICIENT D'ACTIVITÉ À DILUTION INFINIE DES COMPOSÉS D'ARÔME DANS L'EAU ET DANS LE VIN MODÈLE.

Il est indispensable dans un premier temps, de déterminer cette grandeur avant d'entreprendre l'étude des interactions des composés d'arôme avec différentes macromolécules. L'augmentation ou la diminution du coefficient d'activité  $\gamma_i^\infty$  en fonction des modifications d'un système donné mettent en évidence la présence d'interactions physico-chimiques entre le composé  $i$  et le ou les autres constituants du système.

L'étude des interactions avec des macromolécules a été menée en milieu modèle, nommé vin modèle : solution hydro-alcoolique renfermant les principaux sels et acides organiques du

vin. La présence d'éthanol dans le vin modèle à une concentration importante (10% p/p) entraîne une diminution d'environ 50% des coefficients d'activité de tous les composés d'arôme (Tableau 2). Ce résultat traduit en fait une diminution de la volatilité du composé  $K_i^\infty$  par rapport à l'eau pure.

Il apparaît que le milieu de dilution utilisé, eau ou vin modèle a une influence très importante sur la volatilité des composés d'arôme. L'effet de macromolécules sur la volatilité des composés d'arôme a donc été étudié dans le vin modèle. Pour amplifier les phénomènes d'interactions pouvant exister, nous avons effectué les expérimentations avec des concentrations en macromolécules de 1 g/l, concentration maximale de la fraction macromoléculaire du vin, et de 10g/l.



**Tableau 2** : Valeurs des coefficients d'activité  $i^\infty$  dilution infinie des composés d'arôme dans l'eau et dans le vin modèle à 25°C.

Composés d'arôme	$i^\infty$ Eau	$i^\infty$ Vin modèle
Alcool isoamylique	107	61
Octanal	12 200	6 100
Hexanoate d'éthyle	18 900	9 400
Octanoate d'éthyle	599 500	300 200
Décanoate d'éthyle	nd	3 775 000

nd : non déterminé

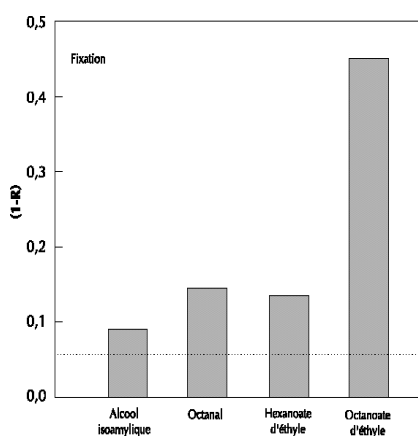
#### MISE EN ÉVIDENCE D'INTERACTIONS ENTRE LA PAROI DE LEVURE ET DES COMPOSÉS D'AROME

La paroi de levure étant en grande partie à l'origine des macromolécules du vin, son influence sur la volatilité des composés d'arôme a été étudiée. Nous avons utilisé des parois de levures *Saccharomyces cerevisiae* produites par la société Fould Springer. Ce substrat renferme la paroi associée avec toute ou partie de la membrane plasmique de la levure.

L'effet de la paroi de levure sur la volatilité de substances d'arôme a été mesuré par l'analyse headspace. Des valeurs de [1-R] négatives indiquent une augmentation de la volatilité (relargage); au contraire des valeurs positives mettent en évidence une fixation du composé d'arôme par les macromolécules (R : rapport des coefficients d'activité ou de partage d'une substance d'arôme obtenus dans le vin modèle avec et sans macromolécule). Des valeurs comprise entre -0,05 et 0,05 ne sont pas significatives au seuil de 5%.

En dialyse à l'équilibre, les taux de fixation de substances d'arôme par les macromolécules sont considérés comme significatifs au seuil de 5%, soit à partir de 4  $\mu$ moles d'arôme fixé / 100  $\mu$ moles d'arôme initiales.

La nature hydrophobe de la substance d'arôme semble être un facteur important pour sa fixation sur les écorces de levures (Figure 1).



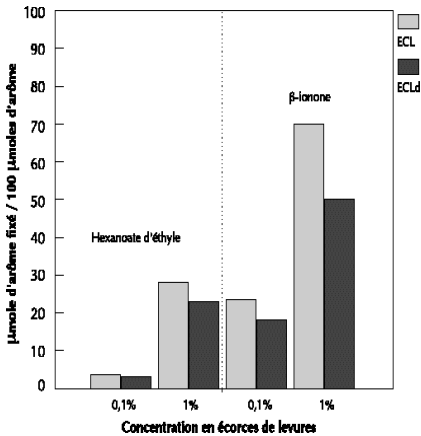
**Figure 1** : Effet des parois de levures à 0,1% dans le vin modèle sur la volatilité de composés d'arôme. La ligne pointillée indique le seuil significatif à 5%.

Ainsi la volatilité de l'hexanoate d'éthyle et de l'octanal, qui ont le même nombre de carbone et une constante d'hydro-phobicité (Log P) comparable, diminue de 14% en présence d'écorces de levures. Il y a donc une fixation significative de ces composés par les écorces de levures. L'alcool isoamylique qui peut être considéré comme polaire est le moins retenu.

En revanche, l'octanoate d'éthyle qui est beaucoup plus hydrophobe est plus fixé par les écorces de levures, ce qui entraîne une diminution de sa volatilité relative de 45%. Ces résultats sont en accord avec les observations de Geneix *et al* 1983 et Voilley *et al* 1990. Ces auteurs ont également montré une fixation plus importante des substances d'arôme les plus hydrophobes.

L'utilisation de la dialyse à l'équilibre permet de confirmer les interactions entre l'hexanoate d'éthyle et les écorces. La -ionone est égale-

ment fixée de façon significative par ce substrat, environ 8 fois plus que l'hexanoate d'éthyle (Figure 2). La  $\beta$ -ionone étant le composé le plus hydrophobe utilisé, ce résultat confirme l'importance de l'hydrophobicité de la substance d'arôme pour les interactions avec les écorces de levures.



**Figure 2 :** Pourcentage de fixation de composés d'arôme par les parois de levures brutes (ECL) et délipidées (ECLd) à 0,1 et 1% dans le vin modèle après dialyse à l'équilibre.

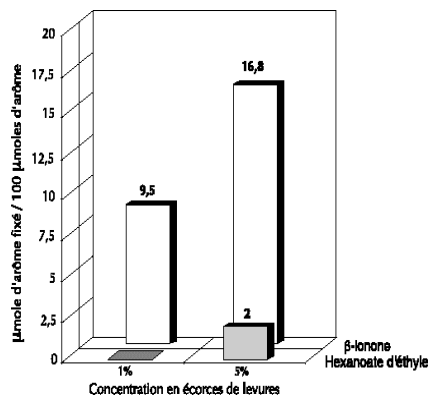
La présence de lipides en quantité relativement importante dans les écorces de levures (18% de la matière sèche), nous a amené à considérer plus spécifiquement l'importance des lipides sur les taux de fixation mesurés. Ainsi les écorces délipidées (ECLd) fixent significativement moins de composés d'arôme que les écorces brutes. Le taux de fixation diminue de 28% pour la  $\beta$ -ionone et de 18% pour l'hexanoate d'éthyle. Les résultats sont similaires avec 0,1 et 1% d'écorces dans le vin modèle. La fixation de la  $\beta$ -ionone dépend donc plus de la présence de lipides que celle de l'hexanoate d'éthyle. Ce résultat peut être expliqué par la meilleure solubilité de la  $\beta$ -ionone dans les lipides.

Nous pouvons apparenter ces enveloppes cellulaires de levures aux «lies fines» sur lesquelles sont conservés les vins blancs lors de l'élevage sur lies. Ces lies se dégradent

par autolyse libèrent des macromolécules dans le vin qui sont donc originaires de la paroi de la levure. Nous avons donc étudié les macromolécules issues de vins élevés sur lies, en ayant conscience qu'il s'agit d'un mélange de macromolécules de levures et de polysaccharides de raisin.

#### EFFET DE MACROMOLÉCULES DE LEVURE

La fraction macromoléculaire du vin de Meursault a été étudiée en dialyse à l'équilibre avec l'hexanoate d'éthyle et la  $\beta$ -ionone (Figure 3). Avec une concentration en rétentat de 1% dans le vin modèle, nous ne mettons pas en évidence de fixation de l'hexanoate d'éthyle. En revanche la  $\beta$ -ionone est fixée significativement à un taux 9,5%. Avec une concentration en substrat supérieure, soit 5%, le taux de fixation de la  $\beta$ -ionone atteint alors 17%.

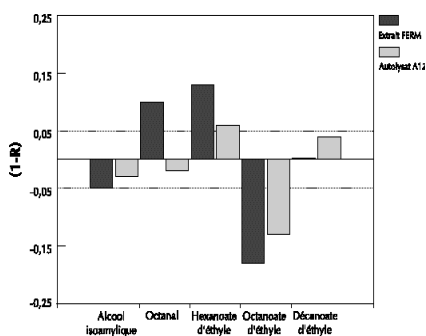


**Figure 3 :** Pourcentage de fixation de composés d'arôme par le rétentat d'ultrafiltration de vin à 1 et 5% dans le vin modèle après dialyse à l'équilibre.

Afin de préciser la nature des macromolécules responsables de la rétention de substances d'arôme, nous avons isolé sur milieu synthétique des macromolécules libérées par les levures d'une part, pendant la fermentation alcoolique (extrait FERM), d'autre part, au cours de l'autolyse de levures entières (autolysat A12).

L'influence de ces macromolécules d'origine levurienne sur la

volatilité des composés d'arôme a été mesurée par l'analyse headspace. On constate soit une augmentation de la volatilité du composé d'arôme soit une diminution (Figure 4).



**Figure 4 :** Effet des macromolécules d'origine levurienne à 0,1% dans le vin modèle sur la volatilité de composés d'arôme.

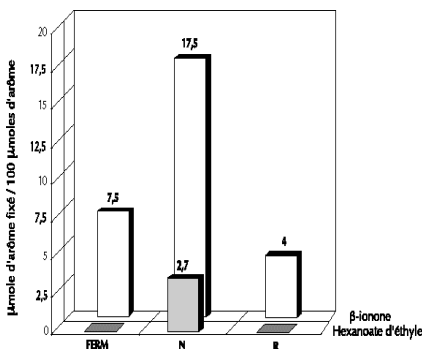
Ainsi la volatilité de l'hexanoate d'éthyle diminue de 6% en présence d'autolysat de levures et de 12% en présence de macromolécules libérées pendant la fermentation. Cette modification de la volatilité peut être attribuée à la fixation du composé d'arôme sur les macromolécules. A l'inverse, la volatilité de l'octanoate d'éthyle est beaucoup plus élevée en présence de macromolécules ; le phénomène étant plus important avec les macromolécules libérées pendant la fermentation qu'au cours de l'autolyse. Pour la même série homologue d'esters, on constate que la volatilité du décanoate d'éthyle n'évolue pas dans le même sens, soit une augmentation de celle-ci en présence de macromolécules.

L'hétérogénéité des extraits qui sont constitués de glucanes, protéines et mannoprotéines est sans doute en cause. Les études de l'effet des polysaccharides et des protéines sur la volatilité des substances d'arôme ont montré que selon la nature des macromolécules les résultats sont très différents. La plupart des protéines présentent des capacités de fixation des composés d'arôme alors que les

polysaccharides sont généralement connus pour augmenter la volatilité des arômes du moins à des concentrations de l'ordre de 1% .

Les fractionnements successifs par chromatographie d'échanges d'ions (DEAE Sephadex) et chromatographie d'affinité sur concanavaline A de l'extrait FERM ont permis d'isoler des mannoprotéines issues de la paroi de la levure qui peuvent rendre compte au moins en partie de la rétention des composés volatils. Deux classes de mannoprotéines ont été isolées sur la concanavaline A : des mannoprotéines riches en protéines non-retenues sur le gel notées -N- et des mannoprotéines hautement glycosylées (plus de 90% de polysaccharides) fortement retenues par la lectine Con-A notées -R-.

Les résultats de dialyse à l'équilibre effectuée avec la -ionone et l'hexanoate d'éthyle montrent que les mannoprotéines (-N-) renfermant 61% de protéines fixent significativement plus de -ionone que l'extrait de macromolécules libérées pendant la fermentation alcoolique (FERM) (Figure 5).



**Figure 5 :** Pourcentage de fixation de composés d'arôme par des mannoprotéines purifiées à partir de l'extrait FERM.

La -ionone est fixée à un taux de 17% et l'hexanoate d'éthyle à un taux de 3% (valeur non significative).

Les mannoprotéines hautement glycosylées (-R-) qui représentent un peu plus de 40% de la matière sèche de l'extrait FERM ne fixent que faiblement la -ionone et n'interagissent pas avec l'hexanoate d'éthyle.

La teneur en protéines de ces molécules constitutives de la paroi de la levure semble être l'un des facteurs prépondérants dans la fixation de composés d'arôme. Dans tous les cas où l'hexanoate d'éthyle est fixé de façon significative, la  $\alpha$ -ionone présente un taux de fixation 6 fois supérieur.

Les deux composés se différencient notamment par leur fonction chimique et par leur degré d'hydrophobicité. Ces résultats confirment l'influence de l'hydrophobicité de la substance volatile sur les interactions entre macromolécules et arômes.

## CONCLUSION

---

L'étude des interactions entre macromolécules d'origine levurienne du vin et des substances d'arôme permet d'expliquer, en partie, les phénomènes pressentis quant à l'incidence de ces macromolécules sur la qualité du vin.

Nous avons montré que les macromolécules isolées par des procédés non dénaturants (excrétion exocellulaire, autolyse) interagissent avec les composés d'arôme, soit par des forces de répulsion, ce qui se traduit par une augmentation de la volatilité de la substance d'arôme, soit par des forces d'attraction ce qui engendre la diminution de la volatilité du composé d'arôme.

L'ensemble des travaux montre l'importance des macromolécules d'origine levurienne sur la volatilité des substances d'arôme et donc leur

incidence sur la qualité aromatique du vin.

Nous proposons une explication à l'altération de l'arôme du vin lors de l'élimination de colloïdes en trop forte proportion, d'une part par une perte de substances d'arôme et d'autre part, par des modifications de leur volatilité.

En effet, la rétention de composés d'arôme par les macromolécules éliminées entraîne des **pertes quantitatives** en arômes.

Les macromolécules de levure augmentent également la volatilité de certaines substances d'arôme. L'élimination de ces molécules «exhausteurs d'arômes» peut se traduire par une **modification qualitative** de l'arôme du produit, l'intensité et la persistance aromatique semblant alors moins élevées.

# BIBLIOGRAPHIE

- BALLOU C.E. (1976). *The structure and biosynthesis of the mannan component of the yeast cell envelope*. Adv. Microb. Physiol., **14**, 93-158.
- BARRILLERE J.M., ESCUDIER J.L., MOUTOUNET M., BENARD P. (1985). *Micro-filtration tangentielle de moûts et de vins. 1ère partie: compte-rendu des essais 1984. Ultrafiltration et Micro-filtration Tangentielle en Oenologie*. (Ed) Institut Technique de la Vigne et du Vin, Paris. pp: 179-188.
- BELLEVILLE M.P. (1991). *Etude du colmatage d'une membrane minérale de microfiltration tangentielle par les constituants macromoléculaires du vin*. Thèses de Doctorat de l'Université de Montpellier II, France.
- BERGER, J.L. (1985) *Résultats analytiques et organoleptiques d'ultrafiltration pilote wine processor-Société I.D.E. Ultrafiltration et Microfiltration Tangentielle en Oenologie*. (Ed) Institut Technique de la Vigne et du Vin, Paris. pp: 121-124.
- BEYELER M., SOLMS J. (1974). *Interaction of flavor model compounds with soy protein and bovine serum albumine*. Lebensm. Wiss. u. Technol., **7** (4), 217-219.
- BRILLOUET J.M., SAULNIER L., MOUTOUNET M. (1989). *Structure des polysaccharides du raisin et de la levure et leur devenir dans le procédé de microfiltration tangentielle du vin*. Bul. O.I.V., 699-700.
- BUTTERY R.G., GUADANI D. G., LING L.C. (1973). *Flavor compounds: volatility in vegetal oil and oil-water mixture. Estimation of odor thresholds*. J. Agric. Food Chem., **21** (2), 198-201.
- CHANDRASEKARAN S.K., KING C.J. (1972). *Solid-liquid phase equilibria in multi-component aqueous sugar solutions*. J. Food Sci., **36**, 699-704.
- CATHEY B.J. (1983). *Regulation of yeast and fungal polysaccharides excluding chitin and cellulose*. In: *Progress in Industrial Microbiology*. (Ed) Bushell M.E. Elsevier Applied Science Publishing Company, **8**, 129-140.
- CHARPENTIER C., N'GUYEN VAN LONG T., BONALY R., FEUILLAT M. (1986). *Alteration of cell wall structure in Saccharomyces cerevisiae and Saccharomyces bayanus during autolysis*. App. Microbiol. Biotechnol., **24**, 405-413.
- CHUNG S., VILLOTA R. (1990). *Changes in partition coefficients of alcohols as affected by the presence of various food solids*. J. Food Proc. Eng., **13**, 169-189.
- DAMODARAN S., KINSELLA J.E. (1981). *Interactions of carbonyls with soy protein*. J. Agric. Food Chem., **29**, 1249-1253.
- DAMODARAN S., KINSELLA J.E. (1983). *Binding of carbonyls to fish actomyosin*. J. Agric. Food Chem., **31**, 865-859.
- De la Ossa E., Galan M.A. (1986). *Salt effect on the vapor-liquid equilibrium of wine*. Am. J. Enol. Vitic., **37** (4), 253-258.
- EBELER S.E., PANGBORN R.M., JENNINGS W.G. (1988). *Influence of dispersion medium on aroma intensity and headspace concentration of menthone and isoamyl acetate*. J. Agric. Food Chem., **3**, 791-796.
- ETIEVIANT P., ISSANCHOUS S., BAYONOVE C.L. (1983). *The flavour of Muscat wine: The sensory contribution of some volatile compounds*. J. Sci. Food Agric. **34**, 497-504.
- ETIEVIANT P. (1991). *Wine. In: Volatile compounds in foods and beverages*. (Ed) Maarse H. Food Science and Technology. Dekker M. New York, pp: 483-546.
- FARKAS V., SVOBODA A. (1980). *Kinetics of -glucan and chitin formation by cells and protoplasts of the yeast Saccharomyces cerevisiae*. Curr. Microbiol., **4**, 99-103.
- FERRARI G., FEUILLAT M. (1988). *L'élevage sur lies des vins blancs de Bourgogne. I. Etude des composés azotés, des acides gras et analyse sensorielle des vins*. Vitis, **27**, 183-197.
- FEUILLAT M., BERNARD, P. (1985). *Influence de la filtration tangentielle des moûts et des vins sur leur composition en colloïdes*. Ultrafiltration et Microfiltration Tangentielle en Oenologie. (Ed) Institut Technique de la Vigne et du Vin Paris, pp: 227-250.
- FEUILLAT M. (1987). *Evolution des colloïdes dans les vins de base et les vins mousseux élaborés selon la méthode champenoise*. Industrie delle bevande (Italie), **4**, 266-273.
- FEUILLAT M., PEYRON D., BERGER J.L. (1987). *Influence de la microfiltration tangentielle des vins sur leur composition physico-chimique et leurs caractères sensoriels. Application aux vins de Bourgogne*. O.I.V., 673-674.
- FEUILLAT M., CHARPENTIER C., PICCA G., BERNARD P. (1988). *Production de colloïdes par les levures dans les vins élaborés selon la méthode Champenoise*. R.F.O.E., **11**, 36-45.
- FEUILLAT M., FREYSSINET M., CHARPENTIER C. (1989). *L'élevage sur lies des vins blancs de Bourgogne. II. Evolution des macromolécules: polysaccharides et protéines*. Vitis, **28**, 161-176.
- FRANZEN K.L., KINSELLA J.E. (1974). *Parameters affecting the binding of volatile flavor compounds in model foods system*. J. Agric. food Chem., **22**, 675-678.
- GENEX C., LAFON-LAFOURCADE S., RIBERAU-GAYON P. (1983). *Les causes, la prévention et les traitements des arrêts de la fermentation alcoolique*. Con. Vigne, Vin, **17** (3), 205-217.
- GREMLY A.H. (1974). *Interaction of flavor compounds with soys proteins*. J. Am. Oil.hem. Soc., **51**, 95-97.
- GUNATA Y.Z., BAYONOVE C.L., BAUMES R.L., CORDONNIER R.E. (1985). *The aroma of grapes. Localisation and evolution of free and bound fraction of some grape aroma compounds*. C.V. Muscat during first development and maturation. J. Sci. Food Agric., **36**, 857-862.
- GUNATA, Y. Z., BAYONOVE, C.L., BAUMES, R.L., CORDONNIER, E. (1986). *Stability of free and bound fractions of aroma components of grapes c.v. Muscat during the wine processing: preliminary results*. Am. J. Enol. Vitic., **37** (2), 112-114.
- HSU J.C., HEATHERBELL D.A. (1987 a). *Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice and wine*. Am. J. Enol. Vitic. **38**, 6-10.
- HSU J.C., HEATHERBELL D.A. (1987 b). *Heat unstable proteins in wine. I: Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment*. Am. J. Enol. Vitic. **38**, 11-16.
- ITO K., KIKUCHI K., OKAZAKI N., KOBAYAASHI S. (1988). *Retention of aroma components in liquors with cyclodextrins*. J. Agric. Biol. Chem. **52** (11), 2763-2769.
- KEPNER R.E., MARSE H., STRATING J. (1964). *Gas chromatographic headspace technique for the quantitative determination of volatile compounds in multicomponent aqueous solution*. Anal. Chem., **36** (1), 77-82.
- KING C.J. (1983). *Physical and chemical properties governing volatilization of flavor and aroma components*. In: *Physical Properties of Food*. (Eds) Peleg M., Bagley E.B., Avi Publishing Company, pp 399-421.
- KINSELLA J.E. (1990). *Flavor perception and binding*. *International New on Fats, Oils and Related Material*, **1** (3), 215-226.
- LEBERT A., RICHON D. (1984). *Infinite dilution activity coefficients of n-alcohols as a function of dextrin concentrations in water-dextrin systems*. J. Agric. Food Chem., **32**, 1156-1161.
- LEROY M.J., CHARPENTIER M., DUTEURTRE B., FEUILLAT M., CHARPENTIER C. (1990). *Yeast autolysis during Champagne aging*. Am. J. Enol. Vitic. **41**, (1), 21-28.
- LLAUBERES R.M., DOUBOURDIEU D., VILLETAZ J.C. (1987). *Exocellular polysaccharides from Saccharomyces in wine*. J. Sci. Food. Agric., **41**, 277-286.
- LUBBERS S., CHARPENTIER C., FEUILLAT M. ET VOILLEY A. 1993. *Interactions arômes-autres constituants du vin. Mise au point d'un système de dialyse à l'équilibre*. Symposium international connaissance aromatique des cépages et qualité du vin 9-10 février, Montpellier.
- LUBBERS S., CHARPENTIER C., FEUILLAT M. ET VOILLEY A. 1993 b. *Influence de macromolécules d'origine levurienne sur l'intensité aromatique d'un vin modèle - Approche instrumentale*. Symposium international connaissance aromatique des cépages et qualité du vin 9-10 février, Montpellier.
- LUBBERS S., CHARPENTIER C., FEUILLAT M. AND VOILLEY A. 1994. *Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine*. Am. J. Enol. Vitic., **45** (1) 29-33.
- LUBBERS S., LEGER B., CHARPENTIER C. ET FEUILLAT M. 1993. *Effet colloïde-protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité trarique d'une solution hydro-alcoolique modèle*. J. Int. Sc. Vigne Vin, **27** (1), 13-22.
- LUBBERS S., VOILLEY A., FEUILLAT M. AND CHARPENTIER C. 1994. *Influence of manno-proteines from yeast on the aroma intensity of a model wine*. accepté par Lenbens. Wiss. u. Technol. **27**, 108-114
- MAIER H.G. (1970). *Volatile flavoring substances in foodstuffs*. Agew. Chem., **9**, (12), 917-988.
- MAIER H.G. (1975). *Binding of aroma substances to nutrients and foodstuffs*. Proc. Int. Symp. Aroma Research, Zeist, Wageningen, 143-157.
- MAIER H.G., HARTMANN R.U. (1977). *The adsorption of volatile aroma constituents by foods VIII. Adsorption of volatile carbonyl compounds by amino acids*. Z. Lebensm. Unters. Forsch., **163**, 251-254.
- MANNERS D.J., MASSON A.J., PATTERSON J.C., BJORNDAAL H., LINBERG B. (1973 a). *The structure of a (1-3)-D-glucan from yeast cell walls*. Biochem. J. **135**, 19-30.
- MANNERS D.J., MASSON A.J., PATTERSON J.C., BJORNDAAL H., LINBERG B. (1973 b). *The structure of a (1-6)-D-glucan from yeast cell walls*. Biochem. J. **135**, 31-36.

- MARAIS J. (1987). *Terpene concentrations and wine quality of vitis vinifera C.V. Gewurztraminer as affected by grape maturity and cellular practices*. *Vitis*, **26**, 231-245.
- MILLER G., AMON J.M., GILSON R.L., SIMPSON R.F. (1985). *Loss of wine aroma attributed to protein stabilisation with bentonite or ultrafiltration tangentielle*. Australian grapegrower Winemaker, **256**, 49-50.
- MILLS O.E., SOLMS J. (1984). *Interactions of selected flavour compounds with whey proteins*. *Lebensm. Wiss. u Technol.* **17**, 381-335.
- MOURGUES J., BENARD P. (1982). *Effets du chauffage de la vendange sur la solubilisation des polyosides et sur la clarification des mouts, des mûtes et des vins*. *Sci. Aliments*, **2**, 83-98.
- MOUTOUNET M., ESCUDIER J.L., BARRILLERE J.M., BENARD P. (1985). *Microfiltration de mouts et de vins, 2<sup>ème</sup> partie : données chromatiques. Ultrafiltration et Microfiltration Tangentielle en Oenologie*. (Ed) Institut Technique du Vin, Paris, pp 189-195.
- MURY C. (1985). *Influence de certains colloïdes sur l'odeur d'un vin modèle. Mémoire ingénieur-ENSBANA, Dijon, France*
- NAKAJIMA T., BALLOU C.E. (1974). *Characterization of the carbohydrate fragments obtained from Saccharomyces cerevisiae mannan by alkaline degradation*. *J. Biol. Chem.*, **249** (23), 7679-7684.
- NAKAJIMA T., BALLOU C.E. (1975). *Microheterogeneity of the inner core region of yeast mannoprotein*. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **66**, (2) 870-879.
- NAWAR, W.W. (1966). *Some considerations in interpretation of direct head-space gas chromatographic analysis of food volatiles*. *Food Technology*, 115-117.
- O'NEILL T.E., KINSELLA J.E. (1987 a). *Flavor protein interaction: characteristics of 2-nonanone binding to isolated soy protein fractions*. *J. Food Sci.*, **52**(1), 98-101.
- O'NEILL, T.E., KINSELLA J.E. (1987 b). *Binding of alkanone flavors to -lactoglobulin : effects of conformational and chemical modification*. *J. Agric Food Chem.*, **35**, 770-774.
- RICHON D., SORRENTINO F., VOILLEY A. (1985). *Infinite dilution activity coefficients by inert gas stripping method : extension to the study of viscous and foaming mixtures*. I.E.C. Process of design Development, **24**, 1160-1165.
- ROSE A.H., VEAZEY F.S., CAMPBELL I. (1988). *Yeast a practical approach*. I.R.L Press, Oxford, pp: 268-275.
- RUTSCHMANN, M.A., HEINIGER, J., PLISKA, V., SOLMS, J. (1989). *Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. I : Method of evaluation of binding profiles with menthone as example*. *Lebensm. Wiss. u Technol.*, **22**, 240-244.
- RUTSCHMANN M.A., SOLMS J. (1990 a). *Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. II : Study of ligand binding binary model systems with decanal, 1-naphthol, mono-stearate and monopalmitate*. *Lebensm. Wiss. u Technol.*, **23**, 70-79.
- RUTSCHMANN M.A., SOLMS J. (1990 b). *Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. III : Study of ligand binding binary model systems with (-) limonene*. *Lebensm. Wiss. u Technol.*, **23**, 80-83.
- RUTSCHMANN M.A., SOLMS J. (1990 c). *Formation of inclusion complexes of starch with different organic compounds. V. Characterization of com-plexes with amperometric iodine titration, as compared with direct quantitative analysis*. *Lebensm. Wiss. u Technol.*, **23**, 88-93.
- SADAFIAN A., CROUZET J. (1987). *Infinite dilution activity coefficients and relative volatilities of some aroma compounds*. *Flavour Fragrance J.* **2**, 103-107
- SANZ P., HERRERO E., SENTANDREU R. (1985). *Autolytic released of mannoproteins from cell walls of S. cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.*, **181**, 2925-2932.
- SAULNIER L., BRILLOUET J.M., MOUTOUNET M. (1988). *Nouvelles acquisitions structurales sur les substances pectiques de la pulpe de raisin*. *Con. Vigne Vin*, **22** (2), 135-158.
- SAULNIER, L. MERCEREAU, T., VEZINHET, F. (1991). *Mannoproteins from flocculating and non flocculating Saccharomyces cerevisiae yeasts*. *J. Sci. Food Agric.*, **54**, 275-286.
- SCHREIER P. (1979). *Flavor composition of wines : a review*. *CR in Food Science and Nutrition* **12**, 59-111.
- SENTANDREU R., HERRERO E., MARTINEZ-GARCIA J.P., LARRIBA G. (1984). *Biogenesis of the yeast cell wall*. In: *Subcellular Biochemistry*. (Ed) Roodyn D.B., Plenum Press, N.Y., London. **10**, pp :193-235.
- SHIBATA N., MIZUGAMI K., TAKANA., SUZUKI S. (1983). *Isolation of mannan-protein complexes from viable cells of S. cerevisiae X2180-1A wild type and I x 2180-1A-5 mutant strains by the action of zymolyase 60 000*. *J. Bacteriol.*, **156** (2), 552-558.
- SIMPSON R.F., MILLER G.C. (1983). *Special procedures for white wines : conserving flavor*. Presented 100th Grape and Wine Symposium. Roseworthy Agricultural college, Roseworthy, (may 1983).
- SOLMS J., OSMAN-ISMAIL, BEYELER M. (1973). *The interaction of volatiles with food components*. *Can. Inst. Food Science Technol. J.* **6** (1), 10-16.
- SOLMS J. (1986). *Interactions of non-volatile and volatile substances in foods. In Interactions of foods components*. (Eds) Birch G.C. and Lindley M.G.. Elsevier Applied Science Publishers, London, pp: 189-210.
- SORRENTINO, F., VOILLEY, A., RICHON, D. (1986). *Activity coefficients of aroma compounds in model food systems*. *Amer. Ins. Chem. Eng.*, **32** (12), 1988-1993.
- SPECTOR A.A. (1975). *Fatty acid binding to plasma albumin*. *J. Lipid. Research*, **16**, 1965-1978.
- USSEGLIO-TOMASSET, L. (1976). *Les colloïdes glucidiques solubles des mouts et des vins*. *Con. Vigne, Vin*, **10**, 193-226.
- VALENTIN E., HERRERO E., JAVIER PASTOR F.I., SENTANDREU R. (1984). *Solubilisation and analysis of mannoproteins molecules from the cell wall of S. cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.*, **130**, 1419-1428.
- VAN GEMERT J.L., NETTENBREIJER A.H. (1977). *Compilation of odour threshold values in air and water*. (Eds) Van Gemert J.L., Nettenbreijer A.H. National Int. Water Supply, Voorburg - Central Int. Nutrition, Food, Res. TNO, Zeist, Netherland
- VILLETAZ J.C., AMADO, R., NEUKOM, H. (1981). *Comparative structural studies of the D-mannans from a rosé wine and Saccharomyces uvarum*. *Carbohydr. Res.*, **81**, 341-344.
- Voilley A., Simatos D., Loncin M. (1977). *Gas phase concentration of volatiles in equilibrium with a liquid aqueous phase*. *Lebensm. Wiss. u Technol.*, **10**, 45-49.
- VOILLEY A., (1986). *Etude de la mobilité de solutés en milieu aqueux concentré. Diffusivité et activité de composés volatils*. Thèse de Docteur es Sciences, ENSBANA, Dijon, France.
- VOILLEY A., LAMER C., DUBOIS P., FEUILLAT M. (1990). *Influence of macromolecules and treatments on the behavior of aroma compounds in a model wine*. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 248-251.
- VOILLEY A., BEGHIN V., CHARPENTIER C., PEYRON D. (1991). *Interactions between aroma substances and macromolecules in a model wine*. *Lebensm. Wiss. u Techno.*, **24**, 469-472.