



Identification et compréhension des processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils lors de la distillation charentaise influant sur la qualité des eaux-de-vie de Cognac

Pierre Awad

► To cite this version:

Pierre Awad. Identification et compréhension des processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils lors de la distillation charentaise influant sur la qualité des eaux-de-vie de Cognac. Génie chimique. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLA044 . tel-02102452

HAL Id: tel-02102452

<https://theses.hal.science/tel-02102452>

Submitted on 17 Apr 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Identification et compréhension des processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils lors de la distillation charentaise influant sur la qualité des eaux-de-vie de Cognac

**Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à AgroParisTech**

Projet financé par la Fondation Poupelain
École doctorale n°581 Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement,
Santé (ABIES)

Spécialité de doctorat: Génie des aliments

Thèse présentée et soutenue à Massy, le 19 décembre 2017, par

Pierre AWAD

Composition du Jury :

Patrick Perré
Professeur, Centrale-Supélec Paris
Jean-Christophe Barbe
Professeur, Bordeaux Sciences Agro
Ziya Günata
Professeur, Université Montpellier 2
Pierre Giampaoli
Professeur, AgroParisTech
Violaine Athès-Dutour
Professeur, AgroParisTech
Patrick Raguenaud
Fondation Poupelain
Gérald Ferrari
BNIC

Président
Rapporteur
Rapporteur
Directeur de thèse
Directrice de thèse
Invité
Invité

A mes parents qui, malgré la distance, ont toujours su rester prêt de moi

A Jean-Claude

Je tiens à remercier mes directeurs de thèse Mme Violaine Athès-Dutour et M. Pierre Giampaoli de la confiance qu'ils m'ont accordée dès le début du projet. Ils m'ont laissé une liberté de travail totale et m'ont soutenu dans les moments critiques.

Mes remerciements vont également aux membres du jury. M. Patrick Perré, Professeur à Centrale-Supélec qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

M. Jean-Christophe Barbe Professeur à Bordeaux Sciences Agro et M. Ziya Günata Professeur à l'université Montpellier 2 d'avoir accepté de juger mon travail de thèse.

L'encadrement de Mme Martine Esteban-Decloux, tout au long des trois années de thèse m'ont été précieux. Je veux aussi exprimer toute ma reconnaissance pour son soutien moral dans les moments de doute.

Cette thèse n'aurait pas pu voir le jour sans le soutien financier de la fondation d'intérêt publique Jean Poupelain. Mes remerciements s'adressent plus particulièrement à MM. Jack Drouneau et Patrick Raguenaud qui ont su m'intégrer dans le monde viticole qui m'était inconnu jusqu'alors.

Je tiens à remercier M. Alain Chevalier et toute l'équipe de distillateurs pour leur collaboration indispensable pour la conduite des distillations et la collecte des prélèvements. Sans leur concours, les travaux en distillerie n'auraient jamais pu aboutir.

Je remercie également le Bureau National Interprofessionnel du Cognac d'avoir été le partenaire de cette étude. Ma reconnaissance va en particulier à M. Luc Lurton, directeur de la station viticole qui m'a ouvert les portes de la station. Je tiens également à remercier M. Gérard Ferrari, directeur adjoint de la station et M. Guillaume Snakkers, responsable du laboratoire d'analyse pour le temps qu'ils m'ont consacré et de leur soutien scientifique.

Je suis extrêmement heureux d'avoir pu travailler au sein d'une équipe avec des qualités humaines fortes. Merci pour les moments de bavardages au coin du couloir et les franches rigolades à la pause-café. Je pense notamment à mes deux acolytes de blagues douteuses : Even Le Roux et Nicolas Descharles. Merci également à Marie-Noëlle, Stéphanie, Séverine, Paola pour votre écoute et votre soutien moral pendant la durée de ce doctorat.

Cette aventure humaine n'aurait pas été la même sans mes camarades doctorants, qui ont été mes confidents lors des phases de blues. Je pense à Aurélia, Jee Hyun, Mayela, Marion, Adrien, Anne-Flore, Marine, Mathieu, Charlotte, Cristian, Josselin et Cassandra.

Merci à ma fiancée Vanessa qui a toujours su trouvé les mots justes au bon moment pour me pousser au-delà de mes limites. Je te suis éternellement reconnaissant pour tous tes encouragements et ton soutien quotidien indéfectible.

Enfin, je veux remercier mes parents qui m'ont toujours soutenu dans chacun de mes projets. Si je suis arrivé à présenter un travail de thèse, c'est grâce à vous. Vous avez fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Merci du fond du cœur.

Communications liées à ce travail

Publications

Awad, P.; Athès, V.; Esteban-Decloux, M.; Ferrari, G.; Snakkers, G.; Raguenaud, P.; Giampaoli, P. Evolution of Volatile Compounds during the Distillation of Cognac Spirit. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, 65 (35), 7736–7748.

Awad, P.; Esteban-Decloux, M.; Galy, B.; Ferrari, G.; Giampaoli, P.; Athès, V. Impact of the Mode of Heating on the Formation of Volatile Compounds during Wine Distillation. *Journal of Food Engineering*. [Article à soumettre]

Awad, P.; Roux, S.; Athès, V.; Giampaoli, P. Study of the Hydrolysis of α -Terpenyl-O- β -Glucopyranoside in Distillation Conditions. *Food Chemistry*. [Article à soumettre]

Communications orales

P. Awad, V. Athès, M. Esteban-Decloux, G. Snakkers and P. Giampaoli. Identification of aroma compounds formed during the distillation of Cognac spirits. Food Factor I Barcelona Conference, 2-4 November 2016, Barcelona, Spain.

P. Awad, V. Athès, M. Esteban-Decloux, G. Snakkers and P. Giampaoli. Identification of aroma compounds formed during the distillation of Cognac spirits. Evaluation sensorielle dans le domaine du vin et des liqueurs, 20 Octobre 2016, Massy, France.

Communications par poster

P. Awad, P. Giampaoli, V. Athès, M. Esteban-Decloux, G. Snakkers. Determination of terpenes formed during the distillation of Cognac spirits. Journées de l'école doctorale ABIES. 12-14 Avril 2016. A remporté le premier prix du concours poster.

Sommaire

I.	INTRODUCTION GENERALE	1
II.	ETAT DE L'ART	5
II.1	L'ELABORATION DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC.....	6
II.1.1	<i>De la vigne au vin</i>	6
II.1.1.1	La région et ses crus	6
II.1.1.2	Les cépages	7
II.1.1.3	Propriétés physico chimiques des vins pour la production de cognac.....	8
II.1.2	<i>L'alambic et la distillation charentaise</i>	9
II.1.2.1	L'alambic charentais.....	9
II.1.2.2	Conduite de la distillation charentaise.....	11
II.1.2.3	Autres méthodes de distillation selon les maisons de cognac.....	15
II.2	REACTIVITE CHIMIQUE AU COURS DE L'ELABORATION DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC.....	16
II.2.1	<i>Alcools.....</i>	16
II.2.1.1	Ethanol.....	17
II.2.1.2	Méthanol	18
II.2.1.3	Alcools supérieurs.....	19
II.2.1.4	Principaux alcools supérieurs retrouvés dans le cognac et leurs propriétés organoleptiques.....	23
II.2.2	<i>Aldéhydes.....</i>	23
II.2.2.1	Formation par voie fermentaire.....	23
II.2.2.2	Formation par voie thermique.....	24
II.2.2.3	Principaux aldéhydes retrouvés dans le cognac et leurs propriétés organoleptiques	29
II.2.3	<i>Acétals.....</i>	30
II.2.4	<i>Esters.....</i>	31
II.2.4.1	Formation par voie fermentaire.....	31
II.2.4.2	Formation par voie chimique.....	33
II.2.4.3	Principaux esters retrouvés dans le cognac et leurs propriétés organoleptiques.....	34
II.2.5	<i>Norisoprénoides.....</i>	35
II.2.5.1	Dégradation des caroténoïdes.....	37
II.2.5.2	Formation des norisoprénoides via l'hydrolyse acide des précurseurs glycosylés	41
II.2.5.3	Structures chimiques et propriétés organoleptiques des norisoprénoides.....	36
II.2.6	<i>Terpènes.....</i>	43
II.3	CONCLUSIONS DE LA SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	47
III.	MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DISTILLATION A PRESSION REDUITE POUR LE DOSAGE DES COMPOSES VOLATILS DANS LES VINS ET ECHANTILLONS A BASSE TENEUR EN ETHANOL	48
III.1	CONTEXTE ET OBJECTIFS	48
III.2	MATERIELS ET METHODES	49
III.2.1	<i>Distillation sous pression réduite utilisant l'évaporateur rotatif.....</i>	49
III.2.2	<i>Méthodes d'analyses par chromatographie en phase gazeuse</i>	50

III.2.2.1	Produits chimiques.....	50
III.2.2.2	Analyse par GC-FID en injection directe.....	51
III.2.2.3	Extraction par pentane/dichloromethane pour l'analyse en GC-MS.....	51
III.2.2.4	Dérivation par PFBHA pour l'analyse des composés carbonylés par GC-MS.....	52
III.3	RESULTATS ET DISCUSSION.....	52
III.3.1	<i>Bilan matière effectué sur l'éthanol lors de la distillation à pression réduite.....</i>	<i>52</i>
III.3.2	<i>Bilan matière effectué sur les composés volatils.....</i>	<i>53</i>
III.3.3	<i>Détermination des facteurs de correspondance entre le distillat et la solution initiale</i>	<i>56</i>
III.4	CONCLUSION SUR LA DISTILLATION A PRESSION REDUITE.....	56
IV.	EVOLUTION DES COMPOSES VOLATILS AU COURS DE LA DISTILLATION DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC.....	59
IV.1	OBJECTIF DE L'ETUDE.....	59
IV.2	ARTICLE: EVOLUTION OF VOLATILE COMPOUNDS DURING THE DISTILLATION OF COGNAC SPIRIT	60
IV.2.1	<i>Abstract.....</i>	<i>60</i>
IV.2.2	<i>Introduction.....</i>	<i>61</i>
IV.2.3	<i>Materials and methods.....</i>	<i>62</i>
IV.2.3.1	Chemicals.....	62
IV.2.3.2	Raw materials and the distillation process	63
IV.2.3.3	Monitoring and sampling during the distillation of cognac spirit.....	64
IV.2.3.4	Sample preparation and quantitative analysis by gas chromatography	64
IV.2.4	<i>Statistical analysis</i>	<i>70</i>
IV.2.5	<i>Establishing a mass balance of the distillation of cognac spirit.....</i>	<i>70</i>
IV.2.5.1	Evaluating the sensory impact of the distillation process on the heart fraction	70
IV.2.6	<i>Results and discussion</i>	<i>71</i>
IV.2.6.1	Formation of esters.....	71
IV.2.6.2	Formation of aldehydes.....	76
IV.2.6.3	Formation of terpenes and norisoprenoids.....	78
IV.2.7	<i>Points à retenir.....</i>	<i>85</i>
V.	INFLUENCE DU MODE DE CHAUFFE SUR LA GENERATION DE COMPOSES VOLATILS PENDANT LA DISTILLATION DU VIN.....	86
V.1	CONTEXTE ET OBJECTIFS	86
V.2	IMPACT OF HEATING METHOD ON THE FORMATION AND PARTITIONING OF VOLATILE COMPOUNDS DURING THE WINE DISTILLATION PROCESS.....	87
V.2.1	<i>Abstract.....</i>	<i>87</i>
V.2.2	<i>Introduction.....</i>	<i>88</i>
V.2.3	<i>Materials and methods.....</i>	<i>89</i>
V.2.3.1	Raw material.....	89
V.2.3.2	The small-scale 70 L copper pot still.....	89
V.2.3.3	Conducting the two distillations.....	91

V.2.3.4	Laboratory scale distillation under low pressure	91
V.2.3.5	Quantitative analysis by gas chromatography	91
V.2.3.6	Method to determine the yield of ethanol during the distillation.....	93
V.2.3.7	Establishing a mass balance of volatile compounds throughout the two wine distillations	93
V.2.4	<i>Results and discussion</i>	93
V.2.4.1	Are there hotspots on the alembic's wall during the direct open flame distillation?.....	93
V.2.4.2	Results of the conducts of the two modes of distillation	95
V.2.4.3	Comparison of the volatile compounds composition between a direct open fire and a steam heating distillate	96
V.2.5	<i>Conclusions</i>	103
V.2.6	<i>Points à retenir</i>	104
VI.	ETUDE DE L'HYDROLYSE ACIDE DE L'α-TERPENYL-<i>O</i>-β-GLUCOPYRANOSIDE DANS DES CONDITIONS DE DISTILLATION	105
VI.1	CONTEXTE ET OBJECTIFS	105
VI.2	STUDY OF THE HYDROLYSIS OF α-TERPENYL-<i>O</i>-β-GLUCOPYRANOSIDE IN DISTILLATION CONDITIONS	106
VI.2.1	<i>Introduction</i>	107
VI.2.2	<i>Material and methods</i>	109
VI.2.2.1	Chemicals and reagents	109
VI.2.2.2	Experimental protocol for α -terpenyl- <i>O</i> - β -glucopyranoside hydrolysis.....	109
VI.2.2.3	Analysis of α -terpenyl- <i>O</i> - β -glucopyranoside by UHPLC/MS-ToF	110
VI.2.2.4	Analysis of reaction products by GC-MS.....	111
VI.2.2.5	Kinetics modelling.....	112
VI.2.3	<i>Results & discussion</i>	113
VI.2.3.1	Effect of ethanol on the hydrolysis of α -terpenyl- <i>O</i> - β -glycopyranoside.....	113
VI.2.3.2	Formation of terpenes.....	115
VI.2.3.3	Multi-response modelling of the degradation of G- α T	117
VI.2.4	<i>Conclusion</i>	118
VI.2.5	<i>Points à retenir</i>	120
VII.	CONCLUSION GENERALE	121
VIII.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	124

Liste des tableaux

Tableau II.1 : différentes méthodes de distillation pratiquées en charente (cantagrel et al., 1991).....	15
Tableau II.2: intermediaires dans la production des acides aminés (nykänen 1986)	21
Tableau II.3 : principaux alcools superieurs retrouvés dans les eaux-de-vie de cognac (^a : Tourlieres 1977 ; Soufleros et Bertrand 1987, ^b : Cortes <i>et al.</i> 2002, ^c : Nykänen et Nykänen 1991, ^d : Cantagrel <i>et al.</i> 1996, ^e : Nykänen et Suomalainen 1983, ^f :Askew and Lisle, 1971 ^g : Schreier et al., 1979).....	23
Tableau II.4 : principaux aldehydes dosés dans le cognac (^a : Nykanen et Suomalainen 1983 ; ^b : Quesada Granados et al. 1996, Caldeira et al. 2010, ^c : Guymon & Crowell 1968, Cantagrel et al. 1996 ; ^d : Badings, 1991, Czerny et al., 2008, ^e : Ronkainen, 1967	30
Tableau II.5 : concentration d'acétals dans le cognac d'après (Schreier et al. 1979 et Nykänen et Suomalainen 1983)	31
Tableau II.6 : identification et quantification des principaux esters dans le cognac (après maturation en fût de chêne ≥ 2 ans). ^a (Otsuka et al., 1979) ; ^b (Nijssen, 1996) ; ^c (Puech et al., 1984) ; ^d (Schreier et al., 1979)	34
Tableau III.1 : masses, masses volumiques et teneurs en éthanol retrouvées dans les différentes fractions permettant d'effectuer un bilan matière sur l'éthanol	53
Tableau III.2: bilan matière effectué sur les composés volatils distillés à pression réduite. ^a 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene. ^b 1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene. ^c 4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one. ^d 4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one.....	55
Tableau III.4 : facteurs de correspondance déterminés à partir d'une eau-de-vie nouvelle de cognac diluée a 9.5 %v/v puis distillée. Le tableau regroupe les facteurs de correspondance des composés volatils de différentes familles chimiques. Résultats exprimés en moyenne ± écart type	58
Table IV.1 : volumes and alcohol content of distillate fractions and the residual solution in the boiler for the first and second distillation as well as mass balance on ethanol (etoh) for both distillations.....	64
Table IV.2 : calibration table. ¹ direct injection (fid detection). ² pentane/dichloromethane extraction. ³ pfbha derivatization. ^A retention index determined on db-wax column. ^B retention index determined on db-5 column. ^C limit of quantitation. Std = standard. Sq = semi-quantified.....	67
Table IV.3 : list of volatile compounds monitored during the charentaise distillation of cognac spirit. In bold = the aroma compounds generated during the distillation and studied in this article. ^a ratio : total mass of volatile compound after distillation / initial mass of volatile compound before distillation. .	73
Tableau IV.4 : repartition of each ester and aldehyde shown for every fractions at the end of the first and second distillation. Values of concentrations are given as mean ± sd. The percentage value is obtained by: mass of volatile compound in given fraction / total mass of volatile compound in all fractions. ...	77
Table IV.5 : repartition of each terpene shown for every fractions at the end of the first and second distillation. Values of concentrations are given as mean ± sd. The percentage value is obtained by: mass of volatile compound in given fraction / total mass of volatile compound in all fractions.....	83
Table IV.6 : repartition of each norisoprenoid shown for every fractions at the end of the first and second distillation.	84

Table V.1: list of volatile compounds monitored during distillation. ¹ direct injection. ² pentane/dichloromethane extraction. ³ pfbha derivatization. ^A retention index. ^B limit of quantification. Sq = semi-quantification.....	92
Table V.2 : mass, density, alcohol content of the wine and the distillate for each type of distillation. Distillation parameters (time and gas pressure) are described for each heating.....	96
Table V.3: mass of volatile compounds found in the wine before distillation and after completion of the open flame and steam heating. Δ mass = mass after heating – mass before heating.....	97
Table V.4: repartition of aldehydes and terpenes for every fractions at the end of the distillation according to the type of heating. Values of concentration are given as mean $\pm$ sd. The percentage value is obtained by: mass of volatile compound in given fraction / total mass of volatile compound in all fractions.....	100
Table VI.1: kinetic rate constants assessed for the overall reaction pathway.....	118

Liste des figures

Figure I.1: schéma représentant les modifications apportées à l'alambic permettant les prélèvements en chaudière et en sortie de distillat	3
Figure II.1 : carte représentant la localisation géographique des crus de cognac	7
Figure II.2 : l'alambic charentais traditionnel.....	9
Figure II.3 : schéma représentant les différentes fractions de distillats produits au cours de la distillation charentaise.....	14
Figure II.4 : fermentation et respiration chez la levure. Adapté de (Ribereau-Gayon et al., 2012)	17
Figure II.5 : mécanisme de formation des alcools supérieurs d'après (Nykänen et Nykänen 1991).....	20
Figure II.6 : voies de formation de certains alcools supérieurs à partir de l'acide pyruvique au cours de la fermentation (Lonvaud-Funel et al., 2010)	21
Figure II.7 : condensation entre un sucre réducteur et un acide aminé.....	25
Figure II.8 : le réarrangement d'amadori.....	25
Figure II.9 : fragmentation des produits du réarrangement d'amadori.....	26
Figure II.10 : dégradation de Strecker.....	27
Figure II.11 : mécanisme de formation du furfural <i>via</i> énoisation à partir du xylose (Danon et al., 2014).....	28
Figure II.12 : mécanisme de formation du furfural à partir du xylose <i>via</i> β -élimination	28
Figure II.13 : les différentes voies réactionnelles conduisant à la formation du furfural à partir du xylose (Danon et al., 2014).....	29
Figure II.14 : schéma de formation des esters d'après (Nordström 1964).....	32
Figure II.15 : réaction d'estérification	34
Figure II.16 : les différentes voies réactionnelles formant les norisoprénoides sous forme libre. Adapté de (Mendes-pinto, 2009).	36
Figure II.17 : les deux classes de norisoprénoides.....	36
Figure II.18: mécanisme général de la dégradation des caroténoïdes pour former les norisoprénoides.	38
Figure II.19: courbe montrant l'effet du pH sur la formation en β -damascenone (Bezman et al., 2005).....	40
Figure II.20 : schéma hypothétique indiquant l'implication possible des phases 1 et 2 dans l'oxydation thermique de la neoxanthine en β -damascenone (Bezman et al., 2005).....	41
Figure II.21 : mécanisme de formation du TDN (1,1,6-trimethyldihydronaphtalene) and riesling acetal and tmpba. (1a) 6,10,10-trimethyl-2-oxaspiro[4.5]dec-6-ene-2,8-diol, (1b) 3,6-dihydroxy- 4,5-didehydro-5,6,7,8-tetrahydro- β -ionone, (2) riesling acetal, (3) tmpba (4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one), (4) 10,10-dimethyl-6-methylene-2- oxaspiro[4.5]dec-7-en-2-ol, (5) 10,10,dimethyl-2-oxaspiro[4.5]dec-2,7-diene, (6) 3-4-dihydroxy-7,8-dihydro- β -ionone, (7) 6-hydroxy-1,1,6-trimethyl-1,2,5,6-tetrahydro- naphthalene, (8) tdn. Adapted from (strauss et al., 1987; mendes-pinto, 2009) ..	42

Figure II.22 : mécanisme de formation des terpènes à partir du geranyl diphosphate (GPP).....	44
Figure II.23 : réarrangement des terpènes catalysés en milieu acide.....	46
Figure III.1 : dispositif utilisant un évaporateur rotatif pour effectuer la distillation à pression réduite	50
Figure IV.1 : overall mass balance on esters and aldehydes established before and after both distillations. A: first distillation b: second distillation. A a = no significant differences quantities of a volatile compound before and after the distillation process. A b = significant differences between quantities of a volatile compound before and after the distillation process. Error bars: standard deviation performed on 3 analyzed samples	72
Figure IV.2 : overall mass balance on terpenes established before and after both distillations. A: first distillation b: second distillation. A a = no significant differences quantities of a volatile compound before and after the distillation process. A b = significant differences between quantities of a volatile compound before and after the distillation process. Error bars: standard deviation performed on 3 analyzed samples	78
Figure IV.3 : overall mass balance on norisoprenoids established before and after both distillations. A: first distillation b: second distillation. A a = no significant differences quantities of a volatile compound before and after the distillation process. A b = significant differences between quantities of a volatile compound before and after the distillation process. Error bars: standard deviation performed on 3 analyzed samples	80
Figure V.1: the small-scale pot still used during the charentaise distillation. A. Open flame heating apparatus b. Steam heating apparatus.	90
Figure V.2: comparison of the boiler's inner wall temperature with the wine temperature during wine distillation. A. Direct open flame heating b. Steam heating I. Phase 1 II. Phase 2	94
Figure V.3: overall mass balance on esters and aldehydes established before and after distillation according to the type of heating.....	98
Figure V.4: overall mass balance on norisoprenoids established before and after distillation according to the type of heating. *isomerism not defined.....	101
Figure V.5: overall mass balance on terpenes established before and after distillation according to the type of heating.	102
Figure VI.1: mechanism of the acid hydrolysis of α -terpenyl- β -glycopyranoside. Nuh = H ₂ O or EtOH. R = C ₁₀ H ₁₇	108
Figure VI.2: proposed reaction pathway for the hydrolysis of α -terpenyl- β -glycopyranoside	109
Figure VI.3: reactor used to carry on the hydrolysis reactions of α -terpenyl- β -glycopyranoside.	110
Figure VI.4: evolution of the concentrations of the substrate and its reaction products over time in aqueous solution (left) and with 10 % v/v of ethanol (right). ■ serial a, ■ serial b, □ serial c. — First order exponential model, - - - pseudo-zero order linear model.....	114
Figure VI.5: acid catalyzed oxidation of α -terpineol in aqueous media	116
Figure VI.6: evolution of the concentration of the substrate and its products over time at 100 °C and pH = 3.3 in aqueous solution (a) and 10 % v/v of ethanol (b). Models plotted corresponds to eq. 1-4 and 6	117

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α T	α -terpineol
Acyl-CoA	Acyl-coenzyme A
AD	Alcool Déshydrogénase
ADP	Adenosine DiPhosphate
AOC	Appellation d'Origine Controlée
ATP	Adenosine TriPhosphate
BNIC	Bureau National Interprofessionnel du Cognac
COFRAC	Comité français d'accréditation
DHA	DiHydroActinidiolide
DPR	Distillation à Pression Réduite
EDV	Eau De Vie
EtOH	Ethanol
G	Glycopyranoside
G- α T	α -terpenyl- <i>O</i> - β -glycopyranoside
GC-FID	Gas Chromatography- Flamme Ionization Detector (Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme)
GC-MS	Gas Chromatography- Mass Spectrometry (Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)
$h_{\text{convection}}, h_{\text{radiation}}$	Coefficient de transfert de chaleur ($\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$)
HAP	Hectolitre d'Alcool Pur
LOD	Limite de Détection
LOQ	Limite de Quantification
N.D.	Non Detecté
NIST	National Institute of Standards and Technology
PFBHA	O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride
pH	Potentiel Hydrogène
pKa	Expression logarithmique de la constante d'acidité K_a : $\text{pKa} = -\log K_a$
PME	Pectine Méthyl Estérase
$\dot{q}$	Densité de flux thermique (W.m^{-2})
RI	Retention Index (Indice de rétention)
SD	Standard Deviation
SIM	Single Ion Monitoring
SQ	Semi-quantified
Std	Standard

T1	<i>Trans</i> -terpin
T2	4-(2-hydroxypropan-2-yl)-1-methylcyclohexan-2-ol
T.A.M.	Titre Alcoométrique Massique
T.A.V.	Titre Alcoométrique Volumique
TDN	1,1,6-trimethyldihydronaphtalene
TMPBA	4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one
TMPBE	4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one
ToF	Time of Flight
TPB	1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene
U	Coefficient de transfert de chaleur global ($\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$)
UHPLC-HRMS	Ultra High Performance Liquid Chromatography- High Resolution Mass spectrometry (Chromatographie en phase liquide à ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution)

I. INTRODUCTION GENERALE

Depuis les années 2000, les ventes mondiales de spiritueux sont en croissance avec un taux de +2,4% par an. Parmi les spiritueux, le cognac, soutenu par de puissantes marques et un positionnement orienté vers le luxe, a signé une performance supérieure à la moyenne avec un taux de croissance annuel de +10,2 % entre 2015/2016 et 2016/2017 selon les chiffres publiés par le Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC, 2017).

Les eaux-de-vie de cognac sont un des fleurons des spiritueux français. Elles sont élaborées dans les départements de la Charente et de la Charente Maritime, issues de vin de cépage Ugni Blanc, distillées puis vieillies en fût de chêne. De l'Extrême-Orient au continent américain en passant par l'Europe, le cognac est synonyme d'une eau-de-vie de très grande qualité de par sa finesse et son caractère raffiné, symbolisant la France et son «Art de Vivre».

Produit de luxe par excellence, le cognac est aujourd'hui exporté à 98 % vers près de 160 pays. Par ailleurs, les chiffres indiquent que 190,2 millions de bouteilles ont été vendues à travers le monde pour l'année 2016/2017, représentant un chiffre d'affaire de 3 milliards d'euros (Sarazin, 2017). Il existe une forte demande pour des produits de plus en plus qualitatifs, qui a encouragé les producteurs de cognac à s'intéresser de plus près à la perception de la qualité de leurs produits, et notamment à la qualité sensorielle, critère essentiel dans le choix et l'appréciation des consommateurs. Il y a donc un réel intérêt de la part des acteurs de la filière à mieux comprendre les liens entre les différentes étapes du processus d'élaboration des cognacs.

Pourtant, la distillation permettant l'obtention de l'eau-de-vie de cognac est un procédé dont les connaissances restent en partie empiriques. La composition en composés volatils des vins et les réactions impliquées dans la production d'arôme pendant la fermentation sont bien connues et décrites dans la littérature. Ainsi, la réactivité chimique au cours de la vinification est détaillée dans des ouvrages (Ribéreau-Gayon et al., 2004, 2012; Lonvaud-Funel et al., 2010). De même, le vieillissement du cognac en fûts de chêne a fait l'objet de plusieurs études, en lien avec la perception sensorielle de composés issus du vieillissement (Fiches et al., 2014, 2016). En revanche, quelques études seulement ont porté sur l'identification des composés volatils dans les eaux-de-vie de cognac fraîchement distillées (Ferrari et al., 2004; Ledauphin et al., 2004, 2006), mais très peu traitent des réactions chimiques pouvant générer des composés volatils au cours du

procédé de distillation, même si cette étape de distillation pour l'obtention d'eau-de-vie nouvelle est un point clé qui détermine la composition aromatique et en conséquence la qualité du produit fini. Afin d'améliorer les connaissances sur l'impact de la distillation sur la génération de composés volatils, la fondation Jean Poupelain a lancé et soutenu ces travaux qui reposent sur l'étude des processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils affectant la qualité des eaux-de-vie au cours de la distillation charentaise. L'étude a été menée au sein des UMR INRA / AgroParisTech Ingénierie Procédés Aliments (GENIAL) et Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires (GMPA), avec un partenariat privilégié avec la station viticole du Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC).

C'est dans ce contexte qu'a été défini l'objectif de ce projet de thèse : identifier et comprendre les processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils lors de la distillation charentaise.

Pour répondre à cet objectif, il nous a fallu tout d'abord identifier les composés volatils générés au cours de la distillation. Pour ce faire, un bilan matière complet sur l'ensemble du procédé de distillation devait être effectué. Afin de mener à bien cette étape, la fondation Poupelain a mis à disposition un alambic charentais traditionnel de la distillerie de l'Antenne situé à Javrezac ainsi qu'une équipe de distillateurs professionnels afin de conduire les distillations charentaises. Afin de pouvoir effectuer des prélèvements du liquide au cœur de la chaudière pendant la distillation, un piquage a été fait sur le dessus de la chaudière. Un débitmètre massique a également été placé en sortie de distillat de l'alambic pour mesurer et relever toutes les dix secondes la densité le débit massique du distillat, sa teneur en éthanol, le volume coulé ainsi que sa température. La **Figure I.1** décrit succinctement le montage mis en place. Grâce à ces modifications nous avons pu prélever les échantillons nécessaires au bilan matière complet tout au long du procédé.

Une fois les échantillons réunis, il s'agissait de doser les composés volatils à l'aide des méthodes analytiques utilisées par la station viticole du Bureau National Interprofessionnel du cognac (BNIC). Toutefois, certains composés volatils sont présents à l'état de trace, dans les échantillons de vin notamment, et il est nécessaire d'effectuer une distillation à l'échelle laboratoire afin de les extraire et les concentrer. A la station viticole, les composés volatils présents dans le vin sont systématiquement concentrés en effectuant une distillation à pression atmosphérique. Leur méthode requiert un double chauffage à 100 °C qui pourrait engendrer des artefacts thermiques. La mise en place d'une distillation à pression réduite permettant une distillation à faible température a permis de concentrer les composés volatils tout en évitant le risque des artefacts.

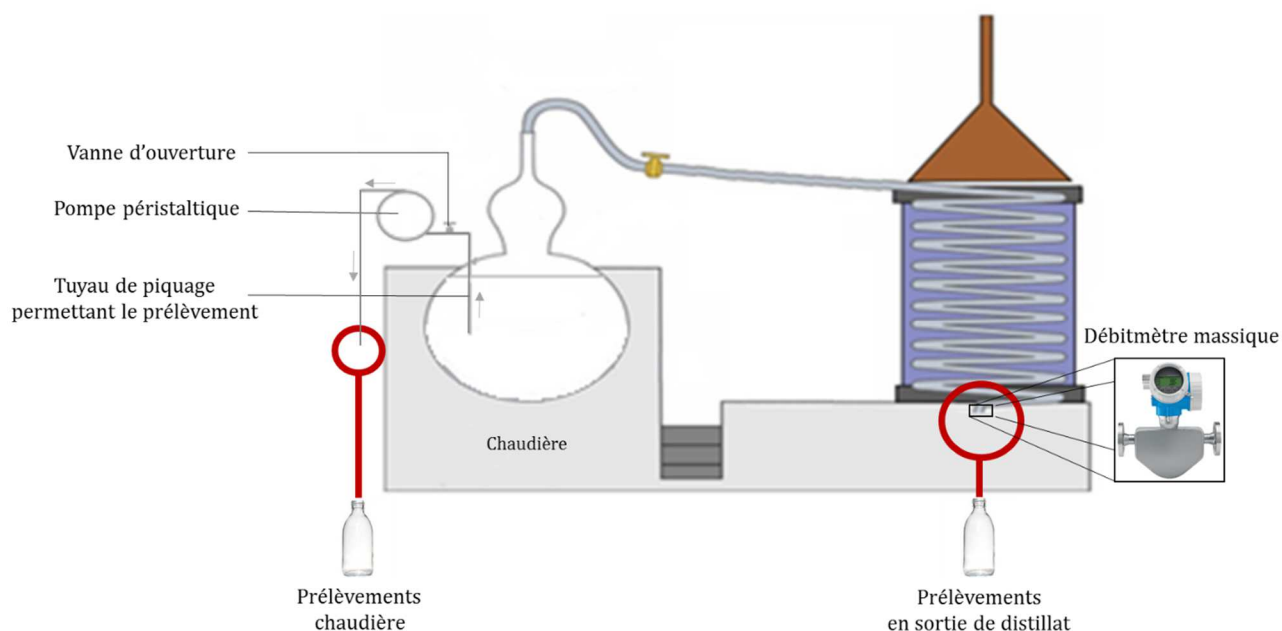


Figure I.1: Schéma représentant les modifications apportées à l'alambic permettant les prélèvements en chaudière et en sortie de distillat

Après la mise au point du mode opératoire de la distillation à pression réduite, l'ensemble des échantillons ont été analysés en suivant les méthodes analytiques de la station viticole du BNIC. Le dosage des composés volatils a permis d'établir un bilan matière afin d'identifier ceux dont la quantité augmentaient au cours de la distillation charentaise.

Après l'identification des composés volatils générés, l'influence du mode de chauffage sur leur formation a été étudiée. Pour cela, un alambic pilote mis à disposition par la station viticole du BNIC a permis d'effectuer une distillation à feu nu et une autre par chauffage à la vapeur. Par ailleurs, les résultats obtenus sur l'alambic pilote ont pu être comparés avec ceux précédemment obtenus avec l'alambic traditionnel afin d'évaluer les éventuelles différences.

Enfin, fort des résultats obtenus sur ces deux campagnes de distillation, nous avons voulu caractériser une réaction chimique impliquée dans la formation d'un composé volatil identifié comme formé au cours de la distillation (charentaise et pilote). Une recherche bibliographique a conduit à sélectionner l' α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside comme exemple de précurseur à suivre. Le principe de la caractérisation a reposé sur l'utilisation d'un réacteur étanche à double enveloppe où la température et le pH pouvaient être contrôlés. Le précurseur choisi était placé dans une solution modèle à un pH similaire à celui des vins précédemment utilisés lors des campagnes de distillation. Seule la teneur en éthanol variait afin de simuler la baisse du taux d'éthanol au cours de la distillation.

Ainsi, le manuscrit s'articule en cinq chapitres. Il débute par un état de l'art des connaissances nécessaires pour répondre à notre question de recherche. Le premier point abordé est l'élaboration des eaux-de-vie de cognac. Cette partie présente le procédé de distillation charentais et son vocabulaire spécifique qui seront requis pour la compréhension de l'étude. La deuxième partie présente les réactions se déroulant au cours de l'élaboration des eaux-de-vie de cognac. En particulier, les différentes réactions chimiques se déroulant lors de la vinification sont décrites afin de justifier la présence de certains composés volatils avant l'étape de distillation. De même, les réactions susceptibles d'avoir lieu au cours de la distillation sont détaillées.

Le manuscrit se poursuit par une partie méthodologique concernant la mise au point d'une méthode d'extraction par distillation à pression réduite afin de concentrer les composés volatils contenus dans le vin avec le moins d'artefacts possible.

Cette méthode a ensuite été utilisée afin d'établir un bilan matière sur les principaux composés volatils retrouvés dans les eaux-de-vie de cognac pour évaluer leur évolution au cours de la distillation charentaise. Les résultats issus de cette étude ont fait l'objet d'une publication dans le *Journal of Agricultural and Food Chemistry* qui a été retranscrite dans le chapitre IV.

Suite à ces résultats, nous avons voulu déterminer l'effet du mode de chauffe sur la génération des composés volatils précédemment identifiés. Ainsi, le chapitre V présente la comparaison de la composition en composés volatils d'un distillat issu d'une distillation par chauffe à feu nu avec celle à la vapeur. Les résultats sont présentés sous forme d'une publication scientifique à soumettre.

Le chapitre VI présente l'étude de l'hydrolyse de l' α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside placé dans des conditions de distillation. Ce chapitre est présenté en tant qu'étude préliminaire sous le format d'un article scientifique qui sera également soumis.

Enfin, ce travail de thèse se conclura par une synthèse générale des résultats afin d'évoquer les perspectives qui en découlent.

II. ETAT DE L'ART

Une eau-de-vie de Cognac est obtenue par distillation discontinue en alambic d'un vin, mélange hydro-alcoolique à faible teneur en éthanol, entre 7 et 12 % v/v. Les eaux-de-vie de cognac vieilles en fûts de chêne possèdent une composition complexe en composés d'arôme qui participe à sa typicité. En effet, l'origine de ces composés d'arôme est multiple : composés intrinsèques du jus de raisin, composés issus de la fermentation, transformation de précurseurs lors du chauffage inhérent à la double distillation et l'apport de composés qui diffusent depuis le bois lors du vieillissement en fût de chêne lors de la maturation de l'eau-de-vie.

La génération de composés volatils sous l'effet du chauffage lors de la distillation du vin est un phénomène mal connu. La maîtrise globale de la qualité des eaux-de-vie incluant la chauffe et les réactions afférentes est très dépendante du savoir-faire des distillateurs, l'opération étant conduite de façon relativement empirique. Pourtant, la distillation charentaise des eaux-de-vie de cognac est un procédé bien décrit en termes d'équipement et de conduite par les professionnels de la filière (Lafon et al., 1964).

L'objectif de la première partie de cette synthèse bibliographique est de décrire l'élaboration des eaux-de-vie de cognac. Cette partie est construite en suivant les étapes aboutissant à la production des eaux-de-vie. Ainsi, nous nous intéresserons d'abord à la région et aux crus à l'origine du vin à distiller. Nous présenterons ensuite le procédé de distillation charentaise en décrivant tout d'abord les différentes parties constituant l'alambic charentais, puis la conduite des deux chauffes successives qui permettent l'obtention de différentes fractions de distillation, ayant différentes teneurs en éthanol.

La seconde partie s'intéresse aux composés volatils d'arôme retrouvés dans les eaux-de-vie nouvelles de cognac en se focalisant sur les réactions impliquées dans la formation des composés volatils retrouvés dans les eaux-de-vie nouvelles. Ces composés sont regroupés par famille chimique et pour chaque famille, les réactions sont présentées distinctement en fonction du moment où elles interviennent pendant les différentes phases de l'élaboration de l'eau-de-vie : maturation de baie de raisin, fermentation puis distillation.

II.1 L'élaboration des eaux-de-vie de cognac

II.1.1 De la vigne au vin

II.1.1.1 La région et ses crus

La première carte délimitant les zones de production d'eau-de-vie de cognac aurait été tracée par un ingénieur civil de Saintes, M Lacroix en 1854. Sur cette carte on trouve les quatre crus définis selon les termes « Grande Champagne », « Petite Champagne », « Premier Bois » et « Deuxième Bois » (Poiron, 1997).

En 1858, M. Coquand, professeur en géologie à l'université de Besançon, a publié un ouvrage faisant le lien entre les diverses qualités d'eaux-de-vie et celles du sol (Bernard, 1980). Dans cette étude, il montre que les eaux-de-vie de Grande Champagne proviennent essentiellement de couches crayeuses et friables, celles de Petite Champagne ont des couches plus solides et moins crayeuses et celles des Bois ont des sols de calcaires durs, sablonneux et argileux. Coquand en déduit que la qualité des eaux-de-vie dépend du terrain sur lequel les vignes sont cultivées et que cette qualité est proportionnelle et à la quantité et à la texture du calcaire dans le sol. En 1861, Lacroix reprit ces conclusions pour éditer une carte des crus plus générale et mieux définie.

Néanmoins ces délimitations seront de nouveau reprises et modifiées et il faudra 77 ans aux différents acteurs de la région pour dresser celle que nous connaissons actuellement et établie le 30 novembre 1938 (Décret du 1er mai 1909 complété par celui du 30 novembre). Six crus y sont indiqués et représentés dans la **Figure II.1**.

On y distingue la Grande Champagne qui est située au sud de Cognac. La Petite Champagne encercle le cru précédent par le sud allant de la région de Pons à Châteauneuf par Jonzac et Barbezieux. Ces deux crus sont riches en calcaire et en argile (Poiron, 1997). Ils sont considérés comme les deux crus les plus prestigieux car ils produisent des eaux-de-vie riches en arômes. Les borderies occupent la troisième en termes de qualité d'eau-de-vie produite. Les sols silico-argileux, produisent des eaux-de-vie moins de fine (Poiron, 1997). Enfin viennent, les fins bois, bons bois et bois ordinaires.

Il semblerait que la teneur en calcaire des sols joue un rôle sur la composition chimique du vin. D'ailleurs, des travaux ont porté sur l'influence du traitement par chaulage (apport de chaux riche en composés calciques) sur la composition chimique d'un vin rouge (Alañón et al., 2016). L'étude a montré que les vins issus d'un sol traité sont plus riches en anthocyanines. Des travaux, effectués

sur d'autres cépages, ont évalué l'influence de différents paramètres viticoles sur la composition en composés volatils. Gil et al. (2013) ont montré que la concentration en terpènes, aldéhydes, esters et cétone augmente après l'exposition aux radiations UV. Une plus forte concentration en terpènes et leurs glycosides a été associée avec le déficit en eau de la vigne (Robinson et al., 2014).

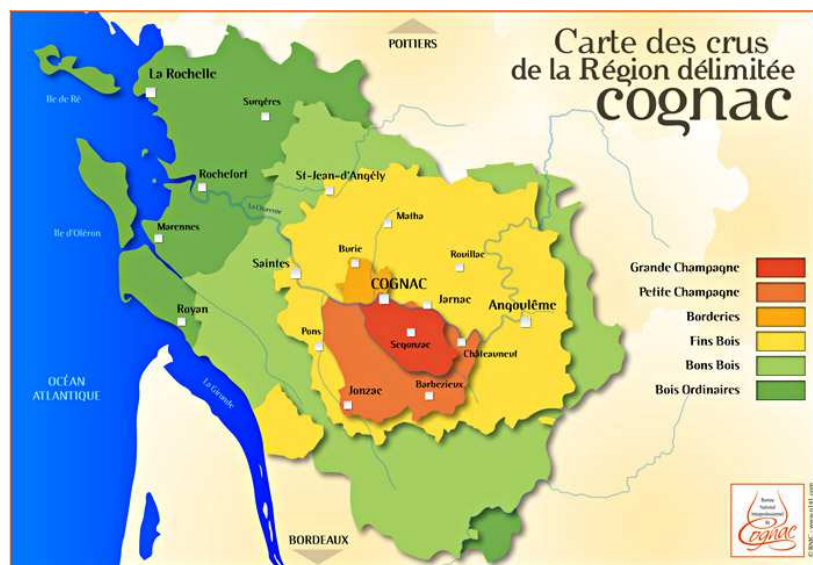


Figure II.1 : Carte représentant la localisation géographique des crus de Cognac (BNIC)

II.1.1.2 Les cépages

Le décret du 13 janvier 1938 (J.O. du 20.01.1938) modifié par le décret n° 2015-10 du 7 janvier 2015 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « Cognac » ou « Eau-de-vie de Cognac » ou « Eau-de-vie des Charentes » précise les cépages principaux et accessoires à l'exclusion de tous les autres, pouvant produire les vins propres à la distillation des eaux-de-vie de cognac ayant droit à l'une des appellations contrôlées.

II.1.1.2.1 Le Colombard

Autrefois, le Colombard était cultivé pour produire du vin de table, notamment dans la région des Borderies. C'est un cépage originaire de la Charente qui donne des vins à teneur en éthanol plus élevée que ceux issus de la Folle Blanche et se conservent bien. Cependant, l'eau-de-vie du Colombard est inférieure à celle de la Folle Blanche (Lafon et al., 1964).

II.1.1.2.2 La Folle Blanche

Elle donne un vin de très bonne qualité pour la distillation et elle a constitué le fond de l'encépagement blanc jusqu'à l'invasion phylloxérique. Malheureusement, le greffage l'a rendu très sensible à la pourriture grise et elle fut remplacée par un cépage moins sensible : l'Ugni blanc

II.1.1.2.3 L'Ugni blanc

Ce cépage est actuellement le plus utilisé pour produire des vins à distiller. Il correspond au cépage italien Trebbiano. Il est surtout apprécié pour sa faible sensibilité face à la pourriture grise. L'Ugni blanc donne des vins acides et moins riches en composés d'arôme ce qui facilite leur conservation. L'eau-de-vie résultante est fine mais moins riche en composés d'arôme que celle de la Folle Blanche (Lafon et al., 1964).

II.1.1.3 Propriétés physico-chimiques des vins pour la production de cognac

Les propriétés recherchées d'un vin destiné à être introduit en chaudière pour être distillé sont différentes de celles d'un vin de table. Un bon vin de distillation possède une acidité forte et présente une faible teneur en éthanol. La fermentation alcoolique dure en moyenne cinq jours. Elle s'effectue essentiellement sous l'action des levures *S. Cerevisiae* (Caumeil, 1983).

Après la fermentation alcoolique vient la fermentation malolactique lors de laquelle l'acide malique est dégradé en acide lactique grâce à des bactéries *Leuconostoc Oenos* (Versari et al., 1999). Cette étape entraîne une diminution de l'acidité du vin.

Le titre alcoométrique volumique est compris entre 7 et 10 % v/v à l'issue de la fermentation. Le titre alcoométrique des bons vins de distillation n'est jamais très élevé. Pour faire une quantité déterminée d'eau-de-vie, il faut une quantité plus grande de vin à faible teneur en alcool que de vin à fort degré, d'où une quantité tout aussi importante de composés volatils à concentrer (Lafon et al., 1964).

La réglementation interdit d'ajouter du dioxyde de soufre pour la conservation du vin car ce dernier favorise la formation d'éthanal (Décret n° 2015-10 du 7 janvier 2015 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « Cognac » ou « Eau-de-vie de Cognac » ou « Eau-de-vie des Charentes »). D'ailleurs, Cassalone et al. (1992) ont montré que les levures *S. cerevisiae* résistantes aux sulfites accumulent plus d'éthanal dans le milieu de culture que leur souche parentale.

En résumé, les vins destinés à la production du cognac ont un titre alcoométrique modéré et doivent être suffisamment acides pour se conserver dans les meilleures conditions jusqu'à la distillation. D'ailleurs, la distillation des vins doit être effectuée avant le 31 mars de l'année qui suit celle de la récolte afin d'obtenir l'appellation Cognac (Décret du 15 mai 1936 (J.O. du 17.05.36) définissant les appellations contrôlées « Cognac », « Eau-de-vie de Cognac » et « Eau-de-vie des

Charentes ») car, passé cette date, le vin n'est plus propre à être distillé car sa qualité organoleptique s'est trop dégradée. Ainsi, une distillation précoce permet d'obtenir les meilleures eaux-de-vie en évitant les altérations du vin par les bactéries ou par l'oxydation.

II.1.2 L'alambic et la distillation charentaise

Il s'agit ici de présenter l'alambic charentais et la méthode de distillation servant à produire les eaux-de-vie de cognac.

II.1.2.1 L'alambic charentais

La qualité organoleptique d'une eau-de-vie découle de la nature du vin, de la manière dont le distillateur conduit la chauffe mais également de l'alambic utilisé. Cette partie présente les différents composants qui constituent l'alambic charentais traditionnel (**Figure II.2**).

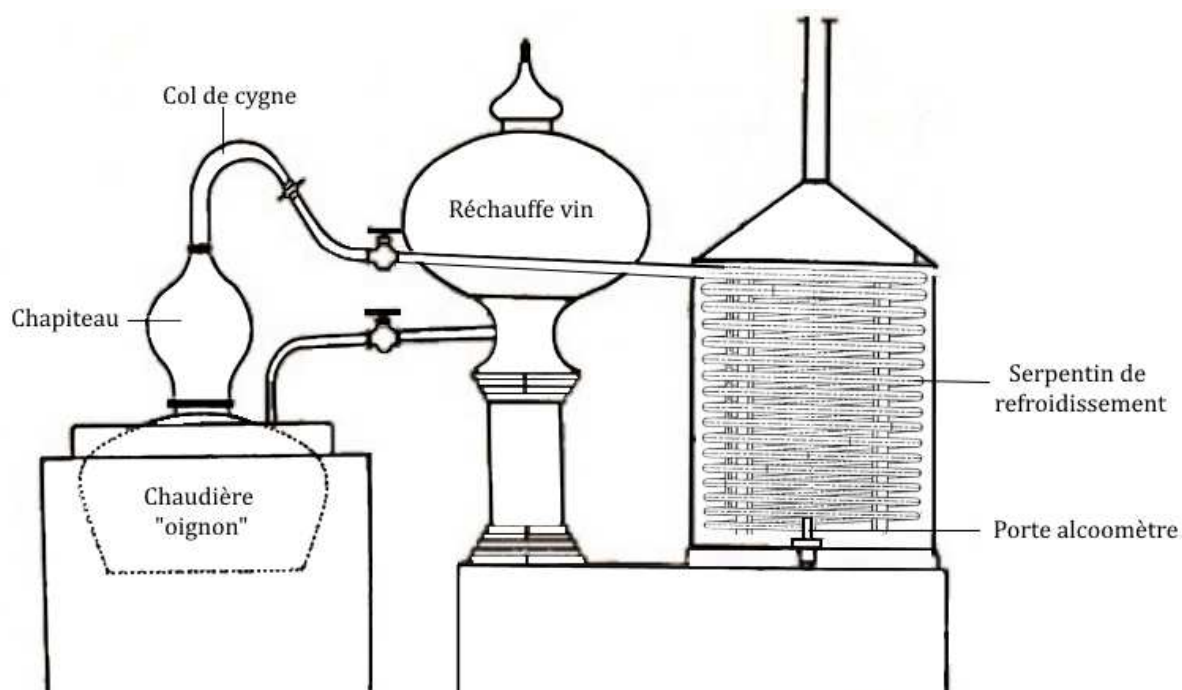


Figure II.2 : L'alambic charentais traditionnel (d'après (Léauté, 1990)).

II.1.2.1.1 *La chaudière et son foyer*

La chaudière en cuivre est l'élément central de l'alambic Charentais. Sa forme est régulière et sa surface lisse, permettant d'effectuer un nettoyage complet et facile de toutes ses parties ainsi que d'assurer une bonne régularité lors de la conduite des chauffes (Lafon et al., 1964; Léauté, 1990). Il existe deux formes de chaudières : « droites » et « oignons ». La forme droite possède des angles droits sur les parties inférieures et supérieures ce qui rend son nettoyage difficile. En revanche, la forme oignon qui présente une forme plus arrondie est plus facile à nettoyer. D'ailleurs cette forme est la plus répandue au sein des distilleries.

Que la forme soit droite ou en oignon, toute la chaudière doit être « planée ». Le planage (ou martelage) consiste à resserrer les pores du cuivre pour lui donner plus de résistance (Lafon et al., 1964). Un planage correctement effectué permet à la surface interne d'être lisse et unie ce qui empêche l'adhésion des lies du vin et améliore le nettoyage de la chaudière.

Le fond de la chaudière est continuellement exposé à la flamme du brûleur et son épaisseur joue un rôle primordial. Lorsqu'elle est trop fine, l'apport de chaleur s'en trouve modifié. Cela peut provoquer l'apparition de « coup de feu » au cours de la chauffe entraînant des notes de brûlé indésirables. En revanche, lorsque le fond est plus épais, les coups de feu sont réduits grâce à la répartition de la chaleur par la paroi. L'épaisseur de la paroi est initialement d'environ 14 mm. L'épaisseur se réduit à mesure que la chaudière est utilisée et nettoyée (Verre, 1993). Les professionnels estiment qu'en dessous de 8 mm d'épaisseur, la chaudière doit être changée.

II.1.2.1.2 Les autres parties de l'alambic

II.1.2.1.2.1 Le chapiteau et col de cygne

Le chapiteau est la partie placée au-dessus de la chaudière. Il possède une forme de poire surmontée d'un col de cygne (Fig. II.2). Son but est d'éviter les entraînements et débordements de liquide. Le volume du chapiteau représente environ 10 à 12 % de la capacité de la chaudière (Léauté, 1990). Le volume et la forme du chapiteau et du col de cygne jouent un rôle dans la concentration, la sélection et la séparation des différents composés volatils (Cantagrel et al., 1996).

Le chapiteau est surmonté d'un col de cygne qui provoque une rectification partielle de l'eau-de-vie. En d'autres termes, cette forme favorise la condensation de la vapeur au contact de la surface du chapiteau et du col de cygne. Cela permet de mieux sélectionner les composés volatils. Les anciennes formes de chapiteaux appelées « têtes de Maures » entraînent une rectification faible de même que les formes « olive ». Aujourd'hui, les formes « oignon » sont les plus répandues, elles entraînent une rectification plus importante (Cantagrel et al., 1991).

II.1.2.1.2.2 Le serpent de refroidissement

Le serpent de condensation et de refroidissement est en cuivre. Pendant la condensation, le cuivre réagit avec les composés du distillat (composés soufrés et acides gras) pour former des complexes insolubles (Léauté, 1990). Ces complexes sont ensuite filtrés au niveau du porte-alcoomètre. Le serpent est plongé dans la pipe de refroidissement qui est une cuve en cuivre ou

en inox remplie d'eau froide. La qualité d'un serpentin de refroidissement est appréciée par sa capacité à fournir un débit de coulage constant et une température de coulage stable. Le tuyau formant les spires de la partie supérieure du serpentin est d'un diamètre plus grand que celui de la partie inférieure. En effet, des tuyaux possédant un grand diamètre permettent une circulation moins rapide de la vapeur. Ainsi, pour une chaudière de 25 hL, la longueur du serpentin est de 65 m avec un diamètre d'entrée de 8,5 cm et de sortie de 4 cm (Poiron, 1997).

II.1.2.1.2.3 Le porte-alcoomètre

Le porte-alcoomètre est également fait en cuivre et a plusieurs fonctions : filtrer le distillat, suivre la température de coulage et suivre l'évolution du Titre Alcoométrique Volumique (T.A.V.) pour permettre au distillateur d'évaluer la progression de la distillation.

II.1.2.1.2.4 Le chauffe-vin

Il permet de préchauffer le vin en récupérant la chaleur entre le col de cygne et le serpentin. Sa capacité est égale à la charge de la chaudière. Les températures de préchauffage se situent aux alentours de 30 à 40°C.

Il convient de réchauffer le vin le plus rapidement possible afin de limiter son oxydation. Cependant, il ne doit pas être réchauffé à plus de 45 °C car cela peut entraîner des goûts de cuit et une perte en composés d'arôme initialement présents dans le vin et donc réduire le potentiel aromatique des eaux-de vies. Le chauffe vin est un élément facultatif de la distillation, toutes les installations n'en sont pas équipées.

II.1.2.2 Conduite de la distillation charentaise

Tout d'abord, il est utile de préciser qu'il n'existe pas de règle absolue quant à la conduite de la distillation et chaque maison de cognac a donc la possibilité de modifier sa façon de procéder suivant le Titre Alcoométrique Volumique (T.A.V.), la nature et la qualité des vins utilisés.

Cette partie détaille le procédé le plus largement suivi dans la région et qui a également été adopté lors de la campagne de distillation menée pendant cette étude qui est appelée « méthode Hennessy » car utilisée par la maison Hennessy. La distillation charentaise se décompose en deux étapes.

II.1.2.2.1 La première chauffe

II.1.2.2.1.1 La charge et la mise au courant

Il existe des chaudières de capacité allant de 25 à 100 hL. L'emploi de chaudières de capacité supérieure à 25 hL est limité par la législation. En effet, l'article 5 du décret du 15 mai 1936 (J.O. du 17.05.1936) modifié par le décret n° 2015-10 du 7 janvier 2015 stipule que la capacité totale d'une chaudière ne doit pas dépasser 30 hL et que le volume de charge est limité à 25 hL. Lafon et al. (1964) affirment que des distillations effectuées à partir de mêmes vins dans des chaudières de contenances différentes ne produisent pas la même qualité d'eau-de-vie. L'augmentation de la capacité de la chaudière se traduit par une diminution de la finesse et douceur de l'eau-de-vie obtenue. Néanmoins, les chaudières d'une capacité supérieure peuvent servir à la distillation à la seule condition qu'elles soient réservées à la première chauffe.

Une fois la chaudière chargée, vient l'étape de la « mise au courant ». Cette étape consiste à porter le vin à sa température d'ébullition et dure environ 1h30. Une fois que la vapeur ascendante franchit le col de cygne, la pression de gaz au niveau du brûleur est diminuée afin d'éviter l'emballement qui aurait pour conséquence le passage de vin à l'état liquide dans le distillat, par entraînement. La phase de mise au courant se termine lorsque les premières gouttes de distillat apparaissent en sortie de serpentin.

II.1.2.2.1.2 Le coulage des têtes de brouillis

Une fois le vin porté à ébullition, la vapeur émise passe le col de cygne et atteint le serpentin de refroidissement où elle se condense pour donner le distillat. Le débit du distillat doit être d'environ 1 L.min⁻¹ pour 25 hL de vin et sa température de coulage comprise entre 13 °C et 15 °C (Cantagrel et al., 1991). Cette température de coulage permet une précipitation des complexes cuivre-acides carboxyliques et des complexes soufrés selon Lafon et al. (1964) et Cantagrel et al. (1991). Les premiers litres obtenus, appelés « têtes de brouillis » et dont le T.A.V. est aux alentours de 60 % v/v., sont recueillis et recyclés ultérieurement dans le vin de la chauffe suivante. Le volume récolté dépend grandement de la qualité du vin à distiller. Ainsi, lorsque les raisins sont altérés, surtout en « année de pourriture », l'odeur nauséabonde et pourrie qui se dégage en début de chauffe amène le distillateur à recueillir un volume plus important de têtes de brouillis. En revanche, un vin sain ne nécessite l'évacuation que de 4 à 6 litres de têtes, soit un volume symbolique.

II.1.2.2.1.3 Le brouillis

La suite du coulage correspond à la fraction appelée « brouillis ». La pression de gaz (qui permet de définir la puissance de flamme) au niveau du brûleur est augmentée légèrement tout au long de la distillation afin d'augmenter la puissance de chauffe et accélérer l'extraction d'éthanol. Pendant environ 7 heures (Léauté, 1990), la teneur en alcool du vin s'appauvrit, tandis que le distillat s'écoule avec un T.A.V. diminuant également. La première chauffe prend fin lorsque le T.A.V. du distillat atteint 2 % v/v. Selon le T.A.V. du vin mis en chaudière, le T.A.V. du brouillis recueilli peut varier de 26 à 32 % v/v. Le liquide restant dans la chaudière à l'issue de la première chauffe, appelé « vinasses », est évacué à l'extérieur de la distillerie. Les vinasses sont épandues dans les champs ou traitées par une société spécialisée.

La chaudière est ensuite nettoyée puis remplie soit par du vin soit par du brouillis si suffisamment de brouillis a pu être distillé pour une seconde chauffe ou bonne chauffe. En effet, trois chauffes de vin sont en général nécessaires pour obtenir suffisamment de volume de brouillis pour charger la chaudière de 25 hL.

II.1.2.2.2 La seconde chauffe ou bonne chauffe

Puis, vient la deuxième chauffe, aussi appelée « bonne chauffe par les distillateurs. Lors de cette étape, le brouillis, possédant un T.A.V. compris entre 26 à 32 % v/v., est placé dans la chaudière. La gestion du foyer est similaire à celle effectuée lors de la première chauffe.

II.1.2.2.2.1 Le coulage des têtes et du cœur

Le volume des têtes dépend de la qualité du vin et du déroulement de la première chauffe. Généralement, les têtes représentent une dizaine de litres de T.A.V. d'environ 75 % v/v pour une chaudière de 25 hL de capacité. De la même manière que pour les têtes de brouillis lors de la première chauffe, les têtes sont collectées et recyclées dans le vin de la première chauffe suivante.

Vient ensuite le coulage du cœur. Cette fraction est la plus importante car elle constitue la fraction qui sera mise à vieillir en fût de chêne. Le cœur est coulé directement dans un fût pendant environ six heures (Léauté, 1990). La coupe intervient lorsque le distillat qui s'écoule en sortie de serpentín avoisine 60 % v/v. En effet, Lafon et al. (1964) indiquent que les acides volatils et les éthers se retrouvent dans le distillat lorsque le T.A.V. atteint 60 % v/v. Or, les acides ne sont pas reconnus comme des facteurs de qualité dans les spiritueux (Nykänen and Suomalainen, 1983) et les éthers sont considérés comme responsables du goût de « secondes », fraction s'écoulant en fin de distillation (Lafon et al., 1964). Ces raisons expliquent la coupe effectuée à 60 % v/v. A l'issue

du coulage du cœur, un distillat titrant 70 % v/v, est obtenu. Celui-ci est ensuite placé dans un chai de vieillissement.

II.1.2.2.2 Les secondes et les queues

Le coulage des secondes s'effectue lorsque le T.A.V. du distillat est compris entre 60 % v/v et 8 % v/v. La teneur alcoométrique de cette fraction est d'environ 30 % v/v. et est similaire à celle du brouillis introduit dans la chaudière en début de chauffe. D'ailleurs, les secondes seront recyclées dans le brouillis de la bonne chauffe suivante.

Enfin, les queues représentent la dernière fraction de distillat et aussi la plus faible en éthanol. Au moment où le distillat avoisine 2 % v/v., le gaz est coupé et la bonne chauffe est terminée. Le coulage des queues aura permis la récupération d'un distillat ayant un T.A.V. à 3% v/v. Les queues seront recyclées dans le vin de la première chauffe suivante. La

Figure II.3 schématise l'ensemble des fractions produites au cours des deux distillations ainsi que les recyclages.

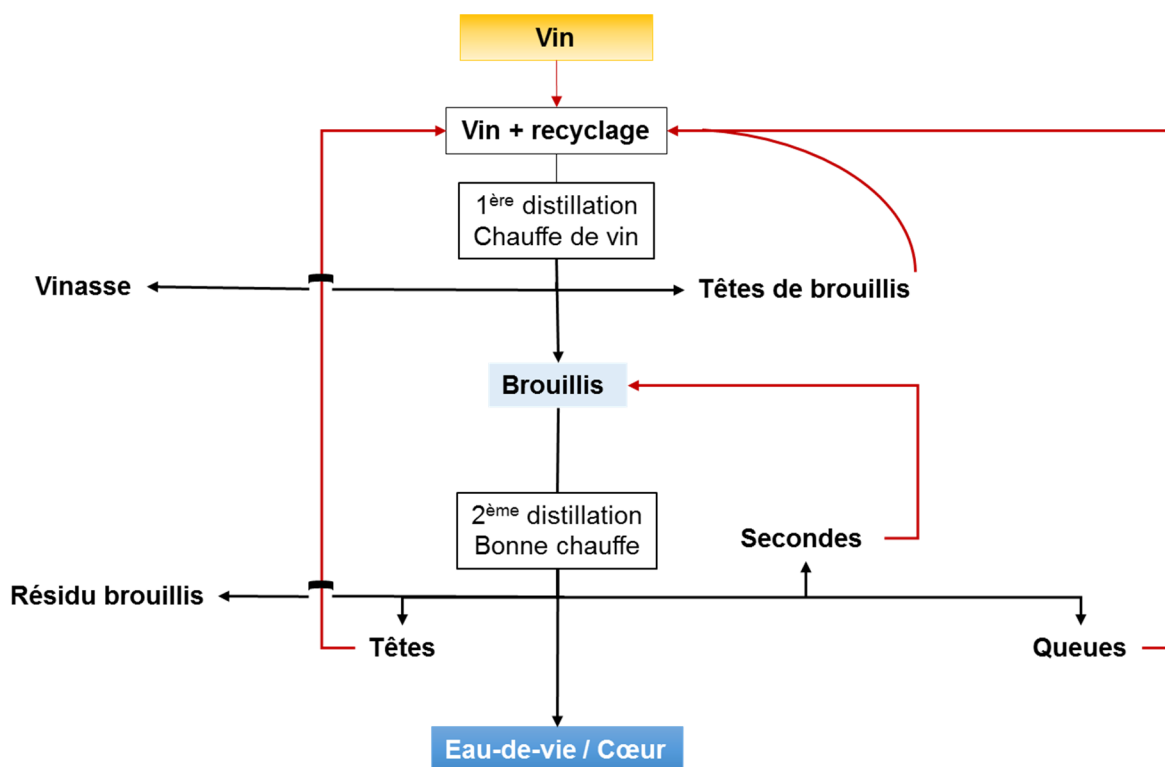


Figure II.3 : Schéma représentant les différentes fractions de distillats produits au cours de la distillation charentaise. - - ► Recyclage

II.1.2.3 Autres méthodes de distillation selon les maisons de cognac

Deux autres méthodes de distillation sont pratiquées en Charente et diffèrent par les aspects suivants:

- recyclage des secondes dans les vins (méthode Martell),
- recyclage des secondes dans les brouillis, distillation des vins avec leurs lies (méthode Hennessy et Rémy Martin).

Le **Tableau II.1** rassemble les caractéristiques de ces deux méthodes ainsi que la méthode Hennessy, déjà présentée précédemment et qui est utilisée dans notre étude.

Tableau II.1 : Différentes méthodes de distillation pratiquées en Charente (Cantagrel et al., 1991)

Méthode Hennessy		Méthode Martell	Méthode Rémy Martin
• Distillation des vins avec leurs lies • Secondes recyclées avec le brouillis • Têtes et queues mélangées avec le vin		• Elimination des lies • Secondes mélangées avec le vin • Prélèvement des têtes faibles, pas de queues	• Distillation des vins avec leurs lies • Secondes recyclées dans les brouillis • Têtes et queues mélangées avec le vin
Première chauffe (chaudière 25 hL)			
Têtes	4 L	1-2 L	10 L
Brouillis	8 hL	9 hL	7 hL
Queues	0 hL	0 hL	1 hL
Deuxième chauffe (chaudière 25 hL)			
Têtes	10 L	37-50 L	25 L
Coeur	8 hL	7 hL	7 hL
Secondes	5 hL	6 hL	6,5 hL
Queues	1 hL	0 hL	1 hL

II.2 Réactivité chimique au cours de l'élaboration des eaux-de-vie de cognac

En premier lieu, nous tenons à souligner que nous avons fait le choix de nommer les composés volatils retrouvés dans les eaux-de-vie de cognac en anglais par soucis de cohérence avec les chapitres suivants où ces composés seront cités sous forme d'article en anglais.

Les eaux-de-vie de cognac possèdent une composition en composés volatils riche et variée. Ledauphin et al. (2004) et Ferrari et al. (2004) ont dressé une liste exhaustive des composés identifiés dans une eau-de-vie nouvelle de cognac. Les analyses qualitatives des eaux-de-vie de cognac ont montré que les principales familles chimiques sont les alcools, les esters, les aldéhydes, les acétals, les norisoprénoïdes et les terpènes.

Ainsi, cette partie se consacre à l'étude de l'origine de ces composés volatils ainsi que leurs voies de réaction. Il est important de noter qu'il est possible qu'un même composé puisse être généré au cours de plusieurs étapes de l'élaboration du cognac. L'étude bibliographique des réactions biologiques intervenant lors de la fermentation permettra de décrire les composés d'arôme présents dans le vin. La recherche de réactions chimiques pouvant générer des composés volatils au cours de la distillation constitue, quant à elle, le cœur de l'état de l'art dans l'optique de notre étude. Les composés seront classés selon leur famille chimique puis selon leur origine de formation au cours du procédé d'élaboration de l'eau-de-vie de cognac. La présence d'alcools, d'aldéhydes, d'acétals, des esters, de terpènes et de norisoprénoïdes dans les vins sera abordée ainsi que leurs mécanismes de formation. Dans une seconde partie, les réactions chimiques pouvant avoir lieu lors de la distillation seront détaillées. On s'attardera notamment sur les aldéhydes, les esters éthyliques, les terpènes et les C₁₃-norisoprénoïdes. A noter que la littérature scientifique est riche quant à la formation des composés volatils lors de la vinification. En revanche, les études portant sur la formation de composés volatils lors du procédé de distillation restent extrêmement lacunaires.

II.2.1 Alcools

On peut décomposer cette famille selon trois groupes :

- L'éthanol : composé le plus abondant, il est considéré comme un solvant.
- Le méthanol : premier composé, à un seul atome de carbone, de la famille des alcools.
- Les alcools supérieurs : ce sont des alcools possédant une chaîne carbonée de plus de deux carbones. En industrie, ils sont appelés huiles de fusel (Nykänen and Suomalainen, 1983).

II.2.1.1 Ethanol

Le glucose ou le fructose sont les deux substrats majoritairement utilisés pour la formation de l'éthanol au cours de la fermentation. Ils sont dans un premier temps phosphorylés via l'action d'enzymes (**Figure II.4**). Il faut noter que ces enzymes ont davantage d'affinité avec le glucose qu'avec le fructose, ce qui explique pourquoi le glucose est consommé plus rapidement que le fructose. Après glycolyse, le glucose-6-phosphate et le fructose-6-phosphate sont transformés en acide pyruvique. Cette molécule est centrale. En effet, elle peut être utilisée vers la voie de la respiration ou de la fermentation. Ainsi, le métabolisme de la levure peut emprunter 2 voies selon la présence ou l'absence d'air :

- en présence d'air et d'une faible concentration en hexose (sucre à six atomes de carbone), il y a respiration et production de biomasse,
- en absence d'air ou concentration en hexose élevée, il y a fermentation et principalement production d'éthanol.

Un excès d'hexose dans le milieu bloque les enzymes de la chaîne respiratoire et oblige la levure à emprunter la voie fermentaire. Dans le métabolisme respiratoire, l'oxygène est assimilé et le pyruvate est entièrement oxydé par le cycle de Krebs qui se déroule dans les mitochondries. Il conduit à la production d'ATP. La respiration permet à la levure de disposer de beaucoup

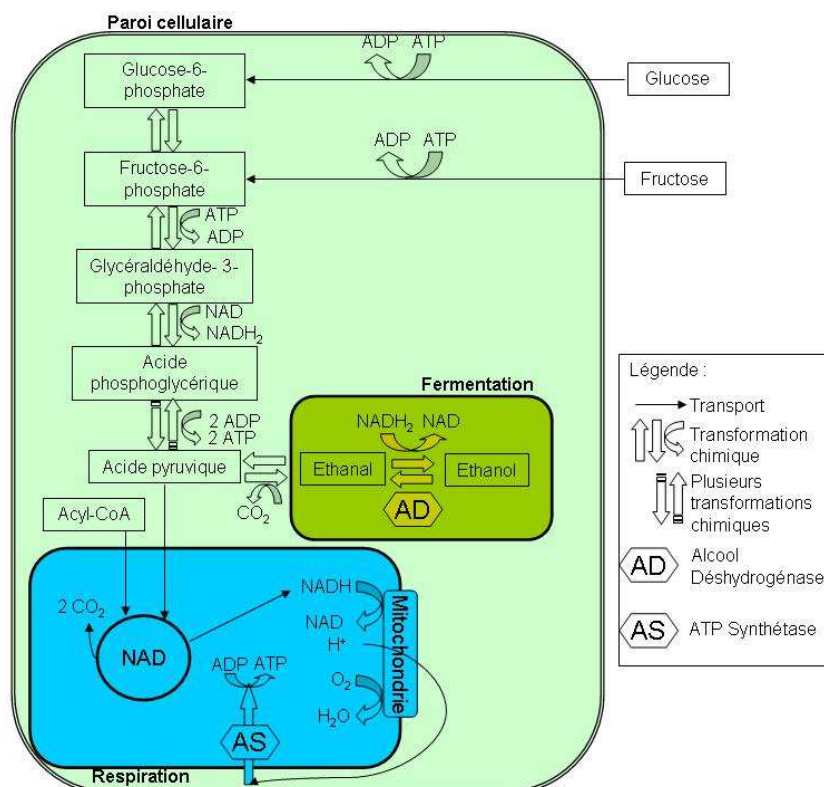


Figure II.4 : Fermentation et respiration chez la levure. Adapté de (Ribéreau-Gayon et al., 2012)

d'énergie, elle peut se reproduire et former la biomasse. Quand la levure *Saccharomyces cerevisiae* est en mode respiratoire, 30% de son métabolisme est quand même dirigé vers la fermentation. En anaérobiose, l'acide pyruvique est majoritairement transformé en éthanol grâce à une enzyme : l'alcool-déshydrogénase (AD). 90 % de l'acide pyruvique est utilisé pour produire de l'éthanol et 10 % est utilisé pour la production de biomasse.

Le bilan global de la fermentation alcoolique est le suivant :



Il y a production d'énergie (104,6 kJ/molécule hexose) pendant la fermentation qui se manifeste par une élévation de température du milieu.

La levure ne stocke pas l'éthanol dans le milieu intracellulaire. La membrane cellulaire est perméable à l'éthanol. Les concentrations en éthanol s'équilibrent de part et d'autre de la membrane. La levure peut supporter des concentrations en éthanol jusqu'à 14 % v/v.

II.2.1.2 Méthanol

Le méthanol n'est pas produit par les micro-organismes qui peuvent être présents dans le vin. Le méthanol est issu de l'hydrolyse de pectines présentes dans les mouts de raisins. Les pectines sont des molécules qui se trouvent dans les parois cellulaires des végétaux. Elles participent à l'élaboration de la structure des parois végétales. Ces molécules sont des polymères de molécules d'acide α -D-galacturonique liées en α 1–4.

L'acide α -D-galacturonique peut être hydrolysé par des enzymes appelées Pectine Methyl Estérase (PME). La PME entraîne la libération des fonctions acides des molécules de pectines et des groupements méthyl. Par ailleurs, (Gnekow and Ough, 1976) ont montré qu'une utilisation d'enzymes pectolytiques commerciales augmente la teneur en méthanol dans le vin lors de sa fermentation.

La quantité de méthanol est directement proportionnelle aux quantités de pectines et de PME disponibles dans le milieu. Aussi, suivant la nature du substrat utilisé (vin blanc ou vin rouge), des compositions plus ou moins importantes de pectines sont observées (Gnekow and Ough, 1976). Les vins rouges ont tendance à contenir plus de méthanol (entre 120 et 250 mg/L) que les vins blancs (entre 40 et 120 mg/L) car ils sont plus longtemps au contact de la peau des raisins lors de la fermentation (Hodson et al., 2017).

(Lisle et al., 1978) ont réalisé une étude sur différents types d'eaux-de-vie, dont 81 échantillons de cognac. La concentration moyenne en méthanol est de 59 g/Hectolitre d'Alcool Pur (HAP), avec un maximum de 140 g/HAP et un minimum de 14 g/HAP. Par ailleurs, (Askew and Lisle, 1971) ont confirmé ces résultats en mesurant 41 g de méthanol/HAP.

La législation européenne (règlement CE N°110/2008 du parlement européen et du conseil du 15 janvier 2008) limite la concentration en méthanol dans les eaux-de-vie de vin à 200 g/hL d'alcool à 100 % v/v. La toxicité du méthanol est bien connue ; par ingestion il s'oxyde en aldéhyde formique et en acide formique qui sont tous deux toxiques pour le système nerveux (Ribéreau-Gayon et al., 2012). De plus (Nykänen and Nykänen, 1991) précisent que le méthanol n'a pas de rôle sensoriel. D'après (Cortés et al., 2002) son seuil de perception est élevé : 1000 g/HAP.

II.2.1.3 Alcools supérieurs

Le mécanisme de formation des alcools supérieurs par les levures a fait l'objet de nombreuses recherches. Dinsmoor Webb and Ingraham, (1963) démontrent les réactions de biosynthèse des alcools supérieurs. Ces travaux seront complétés par (Åyräpää, 1968; Åyräpää, 1971) qui mettent en évidence les mécanismes de contrôle de la formation des alcools supérieurs. Ces travaux seront ensuite repris et complétés par de nombreux auteurs (Nykänen and Suomalainen, 1983; Nykänen and Nykänen, 1991). Les alcools supérieurs peuvent être formés par deux voies : la voie de synthèse des acides aminés et la voie des sucres (Åyräpää 1971) (**Figure II.5**).

La levure a besoin de synthétiser des acides aminés pour produire des protéines. Elle utilise des acides aminés du milieu extérieur. Les acides aminés pénètrent dans la cellule et sont désaminés par l'action d'une transaminase qui transfère le NH_3 sur un acide α -cétooglutarique produisant l'acide glutamique. L'acide aminé qui a perdu son NH_3 devient un acide α -cétonique qui est stocké en suivant la voie d'Ehrlich. L'ensemble des acides α -cétoniques constitue une réserve de stockage.

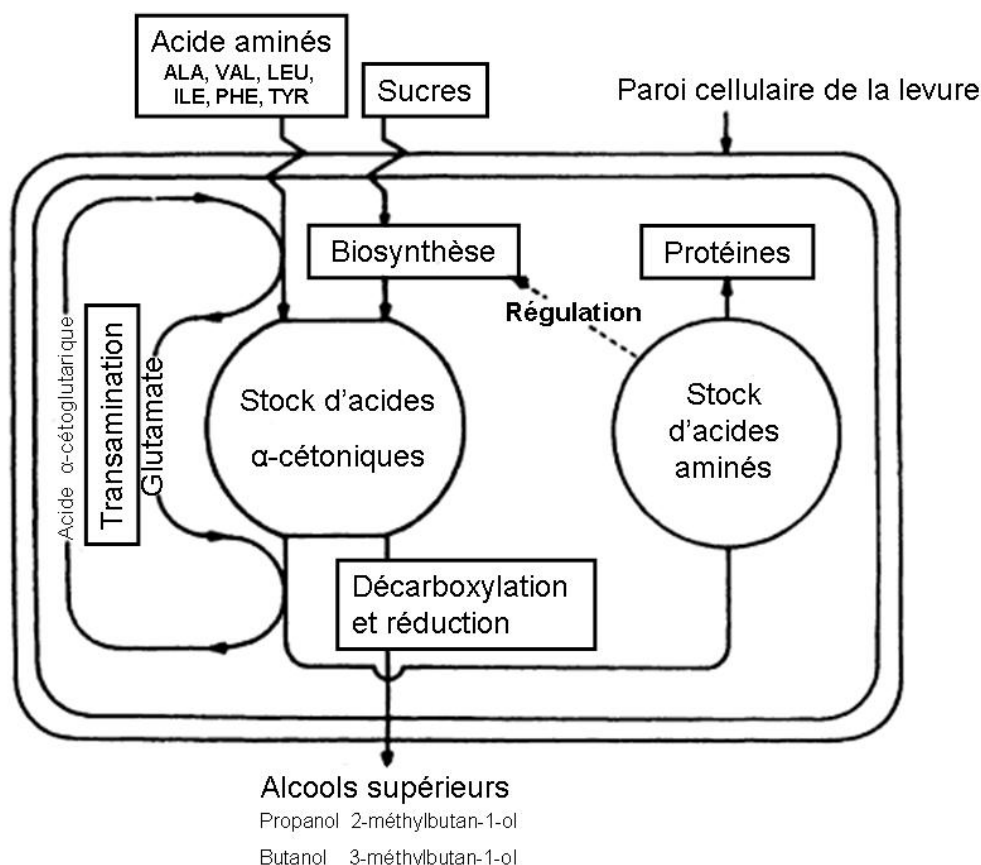


Figure II.5 : Mécanisme de formation des alcools supérieurs suivant la voie de formation d'Ehrlich d'après (Nykänen et Nykänen 1991)

Suivant les besoins de la cellule, ces acides α -cétoniques sont utilisés pour former des acides aminés ou sont dégradés s'ils sont en excès. Les acides α -cétoniques reçoivent un NH_3 par l'intermédiaire du glutamate pour former un acide aminé qui est stocké pour former par la suite des protéines. Les acides α -cétoniques en excès sont dégradés. Les produits de dégradation sont les alcools supérieurs. Ils sont obtenus après une décarboxylation et une réduction des acides α -cétoniques. A partir d'un acide aminé est produit un acide α -cétonique, puis un aldéhyde, et enfin un alcool. Certains acides α -cétoniques insaturés ou possédant une fonction hydroxyle peuvent se cycliser pour former des lactones. La cellule effectue peu de remaniement des squelettes carbonés des acides aminés qu'elle intègre. Aussi, il existe une filiation entre les acides aminés, les acides α -cétoniques et les alcools supérieurs produits (**Tableau II.2**).

L'acide α -cétobutanoïque est un acide α -cétonique important car il a un rôle intermédiaire dans la synthèse des acides aminés. L'isobutanol, le 2-méthylbutanol, le 3-méthylbutanol dérivent chacun d'un acide aminé donné. Le propanol dérive de l'acide 2-aminobutanoïque. Sa voie de formation est donc différente des autres alcools supérieurs (Äyräpää, 1968).

Tableau II.2: Intermédiaires dans la production des acides aminés (Nykänen 1986)

Alcools	Aldéhydes	Acides α -cétoniques	Acide aminé
Ethanol	Ethanal	Acide α -cétopropionique	Alanine
Propanol	Propanal	Acide α -cétobutanoïque	Acide 2-aminobutanoïque
1-butanol	Butanal		
Isobutanol	Isobutanal	Acide α -céto-3-méthylbutanoïque	Valine
2-méthylbutanol	2-méthylbutanal	Acide α -céto-3-méthylpentanoïque	Isoleucine
3-méthylbutanol	3-méthylbutanal	Acide α -céto-3-méthylpentanoïque	Leucine
Hexanol	Hexanal		
2-phénylethanol		Acide 3-phényl- α -cétopropionique	Phénylalanine

Lorsque le milieu s'appauvrit en acides aminés, et que le stockage d'acides aminés au sein de la levure diminue, la levure utilise les sucres pour synthétiser des acides aminés. Ainsi, un autre schéma de synthèse à partir des sucres a été proposé (**Figure II.6**). Dans ce schéma, les sucres sont à l'origine des acides α -cétoniques, eux-mêmes pouvant être réduits en alcool. Par exemple le l'acide pyruvique, issu de la glycolyse, conduit à l'acide α -céto-3-méthylbutanoïque pour former le 3-méthylbutanol après une réduction (Lonvaud-Funel et al., 2010). Nykänen & Nykänen, (1991) précisent également que la levure possède des enzymes qui permettent directement la réduction des aldéhydes formés lors de la fermentation des sucres.

En définitive, un ensemble d'acides α -cétoniques est formé à partir des sucres et des acides aminés. Ces acides α -cétoniques peuvent être orientés vers la synthèse d'alcools supérieurs ou vers celle des acides aminés correspondants.

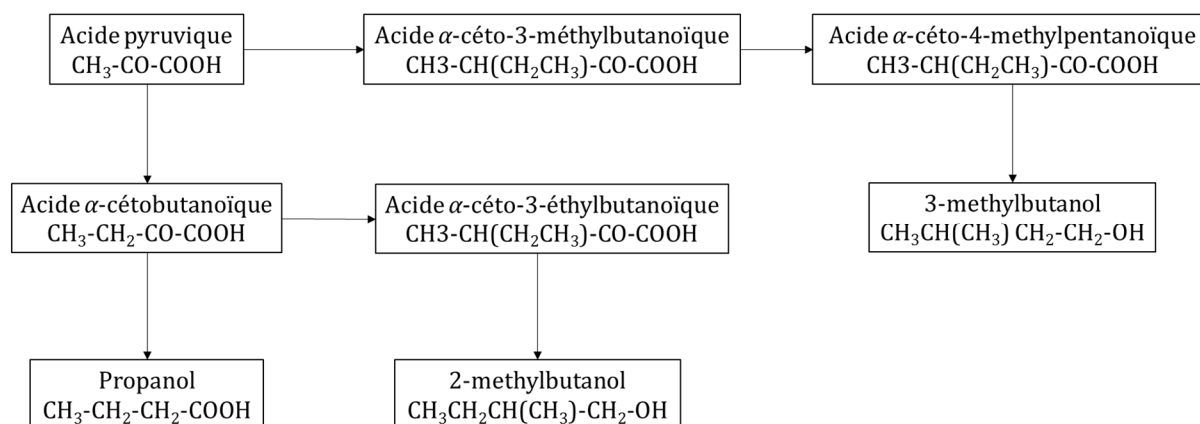


Figure II.6 : Voies de formation de certains alcools supérieurs à partir de l'acide pyruvique au cours de la fermentation (Lonvaud-Funel et al., 2010)

La synthèse des alcools supérieurs peut être influencée par différents facteurs :

- La quantité d'azote disponible dans le milieu. (Ayräpää, 1971) a mené des essais sur des milieux synthétiques contenant 8 % en poids de glucose et des quantités variables d'azote sous forme d'acides aminés. Si la quantité d'acide aminé n'est pas suffisante dans le milieu, il n'y a pas de synthèse d'alcools supérieurs. Si la concentration augmente, il y a synthèse jusqu'à une concentration limite. Si la concentration est trop forte alors les acides aminés du milieu inhibent la synthèse des alcools supérieurs.
- La souche de levure peut influencer la production des alcools supérieurs. Parfait and Jouret, (1975) mettent en évidence que *Schizosaccharomyces pombe* produit moins d'alcools supérieurs que *S. cerevisiae*. Suivant la souche de *Saccharomyces*, la production d'alcools supérieurs peut également varier du simple au double.
- La température de fermentation influence la production des alcools supérieurs. L'optimum de température est de 30°C. Si la température augmente, la quantité d'alcools supérieurs produite diminue (Parfait and Jouret, 1975).
- Le temps de fermentation et le délai d'attente de la cuve avant distillation est également un paramètre important. Patil et al. (2002) montrent que plus les temps sont longs, plus la quantité d'alcools supérieurs augmente.

Les bactéries produisent également des alcools supérieurs (Nykänen and Suomalainen, 1983). Par exemple, les *Lactobacillus* produisent du propanol et du 2-butanol. La production des alcools supérieurs par les bactéries est plus faible que par les levures. Cependant la concentration en 2-butanol est considérée comme un indicateur de contamination bactérienne.

Dirninger and Schaeffer, (1990) confirment ce point lors d'une étude sur la concentration des alcools supérieurs dans les eaux-de-vie de fruits. Ils ont suivi les concentrations en 2-butanol et propanol dans les eaux-de-vie de fruits entre 1975 et 1989. Ils ont constaté qu'au cours du temps les concentrations en 2-butanol et propanol diminuent. Sur la même période, ils constatent une amélioration des conditions d'hygiène et de l'état sanitaire des fermentations. Cette baisse de concentration est à corréliser avec une diminution de la contamination des fermentations par les bactéries.

II.2.1.4 Principaux alcools supérieurs retrouvés dans le cognac et leurs propriétés organoleptiques

Les alcools supérieurs sont quantitativement très importants dans le cognac. Les principaux composés sont le propanol, l'isobutanol, 2-méthylbutanol et le 3-méthylbutanol. La concentration totale en alcools supérieurs peut aller de 138 g/HAP à 950 g/HAP et les composés majoritaires sont l'isobutanol et le 3-méthylbutanol (Askew and Lisle, 1971).

Il a été montré que les alcools supérieurs ont un impact sensoriel (Nykänen and Nykänen, 1983; Nykänen and Suomalainen, 1983). Les notes olfactives sont présentées dans le

Tableau II.3.

Tableau II.3 : Principaux alcools supérieurs retrouvés dans le cognac (a : Tourlières 1977 ; Souffleros et Bertrand 1987, b : Cortés *et al.* 2002, c : Nykänen et Nykänen 1991, d : Cantagrel *et al.* 1996, e : Nykänen et Suomalainen 1983, f : Askew and Lisle, 1971 g : Schreier *et al.*, 1979)

Composé	Concentration (ppm)	Notes olfactives
Propanol	130-160 ^f	Neutre ^{a,b}
Isobutanol	280-360 ^f	
2-méthylbutanol	170-190 ^f	Savonneux, grasse, Transpiration ^d
3-méthylbutanol	660-790 ^f	Grasse, plastique, transpiration, vieux gâteaux secs, amande ^d
Hexanol	10 ^g	Herbe ^d , savon ^d
2-phenylethanol	7 ^f 15-27 ^g	Rose ^{a,b,e} , brûlée, abricot ^d , œillet ^d , cerisier ^d , prunier ^d , abricot, œillet, cerisier, prunier ^d

II.2.2 Aldéhydes

II.2.2.1 Formation par voie fermentaire

La fermentation est la première phase pendant laquelle la plupart des aldéhydes contenus dans les boissons alcoolisées sont formés (Nykänen and Nykänen, 1991). Lors de la formation des aldéhydes, les acides α -cétoniques semblent agir comme précurseurs. Les acides α -cétoniques sont également des composés clés lors de la production d'alcools supérieurs (partie II.2.1) à partir d'acides aminés ou de la dégradation des hexoses par la levure pour former des alcools supérieurs (Ayräpää, 1971; Nykänen, 1986). Suomalainen and Ronkainen, (1963) ont montré que les acides α -cétoniques dans les cellules de levure correspondent aux aldéhydes retrouvés dans la solution fermentée (**Tableau II.2**).

Un manque de nutriments dans le jus de raisin lors de la fermentation augmente la teneur en aldéhydes dans le vin (Nykänen and Suomalainen, 1983). Par ailleurs, la concentration en aldéhydes varie en fonction du type de levures. Ces concentrations peuvent être comprises entre

6 mg/L et 190 mg/L (Nykänen and Nykänen, 1991). Ainsi, la formation d'aldéhydes lors de la fermentation dépend du type de levure et des conditions de fermentation.

II.2.2.2 Formation par voie thermique

II.2.2.2.1 La réaction de Maillard

(Barnavon et al., 2000) ont dosé les sucres au sein des parois cellulaires au cours de la maturation des raisins de type Ugni blanc. Peu d'évolution dans les teneurs ont été observées pour l'arabinose, le rhamnose, le mannose et le xylose lors de la maturation de la vigne.

Les sucres restant à l'issue de la fermentation du moût peuvent réagir. En effet, la présence de ces derniers et de composés aminés exposés à de fortes températures lors du procédé de distillation, entrainerait la synthèse d'aldéhydes par réactions de Maillard. D'ailleurs, Cantagrel et al., (1991) évoquent la possible occurrence de ces réactions pendant la distillation charentaise.

Les réactions de Maillard désignent une succession d'étapes qui aboutissent à la formation de composés responsables de l'arôme et de la flaveur de certains aliments. La meilleure description des réactions de Maillard a été proposée par Hodge (1953). Les réactions de Maillard pouvant être impliquées dans la formation de composés d'arôme peuvent être décomposées en 3 étapes distinctes (Hodge, 1953) :

- Condensation d'un acide aminé et d'un sucre réducteur
- Réarrangement d'Amadori
- La dégradation de Strecker

II.2.2.2.1.1 Condensation d'un acide aminé et d'un sucre

La première étape est la déshydratation d'une amine primaire avec un sucre. La perte d'une molécule d'eau conduit à la formation d'une imine aussi appelée base de Schiff. La **Figure II.7** illustre la réaction conduisant à la formation de la base de Schiff.

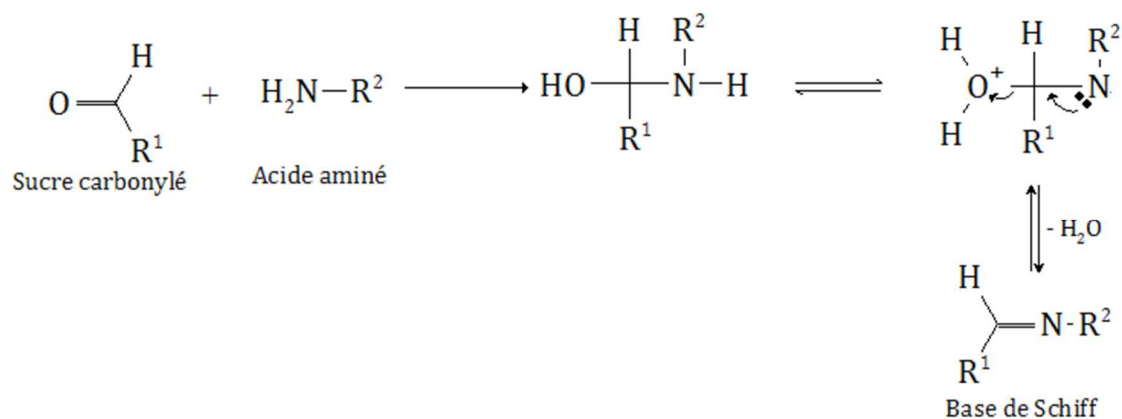


Figure II.7 : Condensation entre un sucre réducteur et un acide aminé

II.2.2.2.1.2 Réarrangement d'Amadori

La base de Schiff peut se réarranger (réarrangement d'Amadori) en effectuant une attaque nucléophile via le doublet de l'azote pour former un ion iminium (**Figure II.8**). Afin de combler la lacune électronique, le carbone β va éjecter un proton H entraînant une délocalisation d'électrons sur l'azote ainsi que la formation d'une double liaison $\text{C}=\text{C}$. Il y a formation d'un énol. Cet énol devient une cétone après un réarrangement tautomérique.

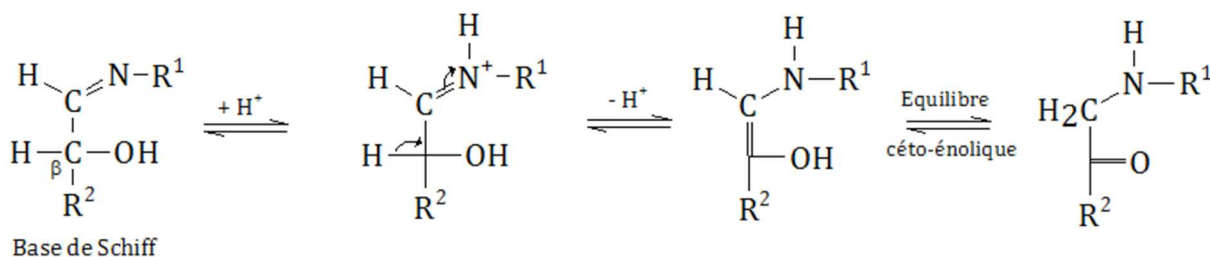


Figure II.8 : Le réarrangement d'Amadori

A un pH compris entre 4-7, les produits issus du réarrangement d'Amadori subissent une fragmentation (**Figure II.9**) pour former des dicétones. Ces dicétones, plus communément appelées deoxyosones sont des composés ayant un α -carbonyl très réactif conduisant à des produits secondaires de premier plan. En effet, les furanoses, pentoses et hexoses sont issus des 1-deoxyosones. Ces composés ont pour caractéristique d'influer sur le goût et l'odeur d'un produit donné.

La 3-déoxyosone forme des pyrroles, pyridines et formylpyrroles. Les pyrroles sont reconnus pour donner un goût sucré voire caramélisé. Les pyridines sont utilisées comme colorant dans l'alimentaire.

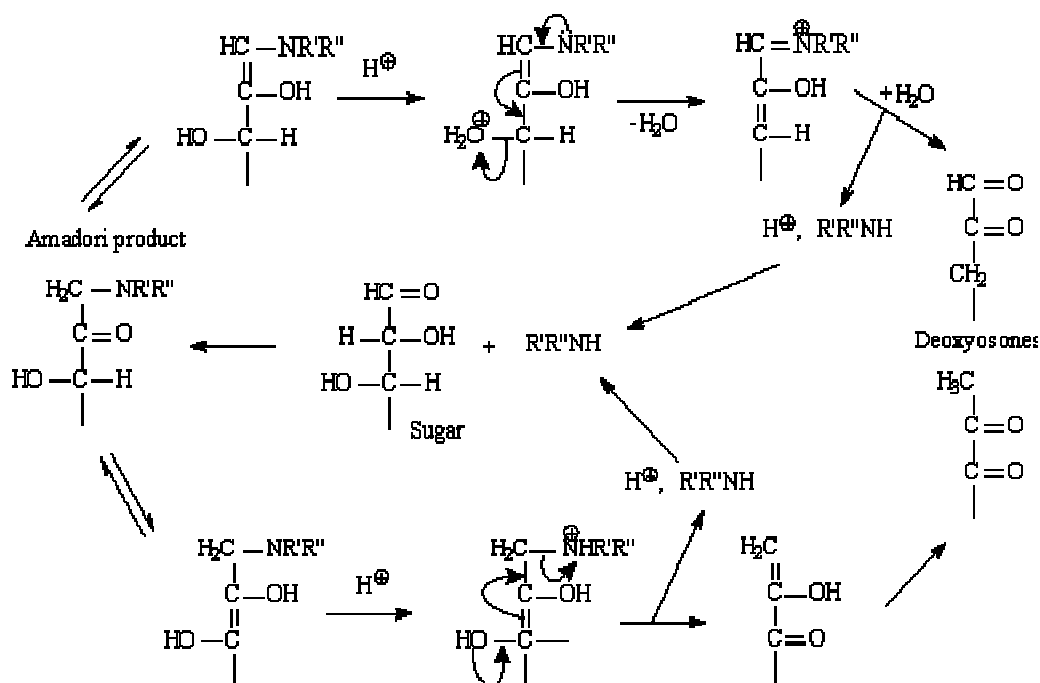


Figure II.9 : Fragmentation des produits du réarrangement d'Amadori

II.2.2.2.1.3 Dégradation de Strecker

Une fois les deoxyosones formées, la dégradation de Strecker peut avoir lieu (**Figure II.10**). Cette réaction s'effectue sous haute température et/ou pression. La première étape de cette dégradation implique la déshydratation d'une amine primaire lors de son attaque nucléophile sur une déoxyosone formant une base de Schiff. S'ensuit un dégagement de dioxyde de carbone formant un aldéhyde de Strecker correspondant à la chaîne aliphatique de l'amine (groupement R sur la **Figure II.10**) et une aminocétone en présence d'eau (Hodge 1953). Cette dernière peut se condenser et former une pyrazine.

La dégradation de Strecker est l'étape des réactions de Maillard conduisant à la formation d'aldéhydes et d'aminocétones ayant un impact sur l'arôme du cognac.

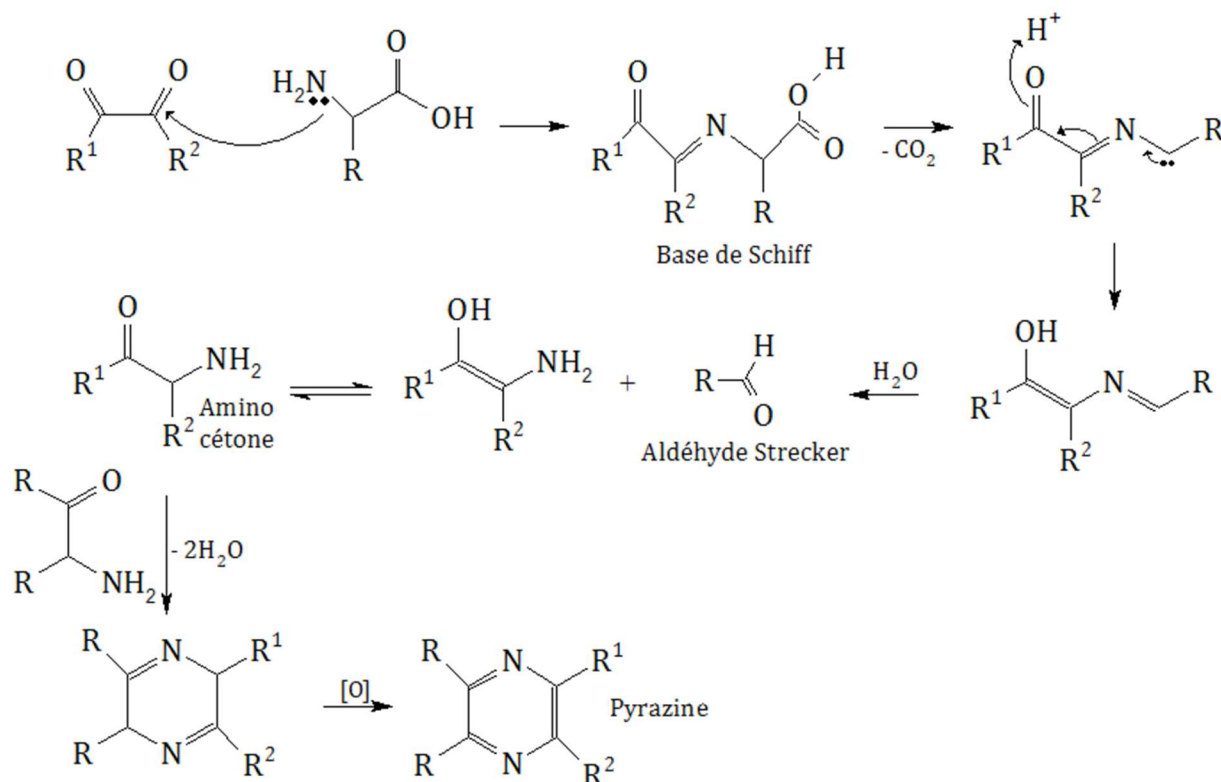


Figure II.10 : Dégradation de Strecker

II.2.2.2.2 *Dégradation du pentose*

La génération du furfural au cours de la distillation viendrait de la dégradation des pentoses (Ledauphin et al., 2006). Une étude de Danon et al., (2014) regroupe l'ensemble des voies réactionnelles connues de formation du furfural à partir de pentoses et détaille le volet cinétique de la réaction dans un milieu aqueux et acide (milieu équivalent aux conditions d'un vin). L'étude cinétique a été conduite à partir du xylose, un composé faisant partie de la famille des pentoses.

La voie la plus plausible de formation serait par énoisation du xylose formant l'intermédiaire 1,2-enediol (2) puis l'aldéhyde 2,3-(α,β) insaturé (4) puis le furfural par des déshydratations successives. La **Figure II.11** illustre cette voie de formation. Chaque étape menant à la formation des intermédiaires et du furfural est irréversible.

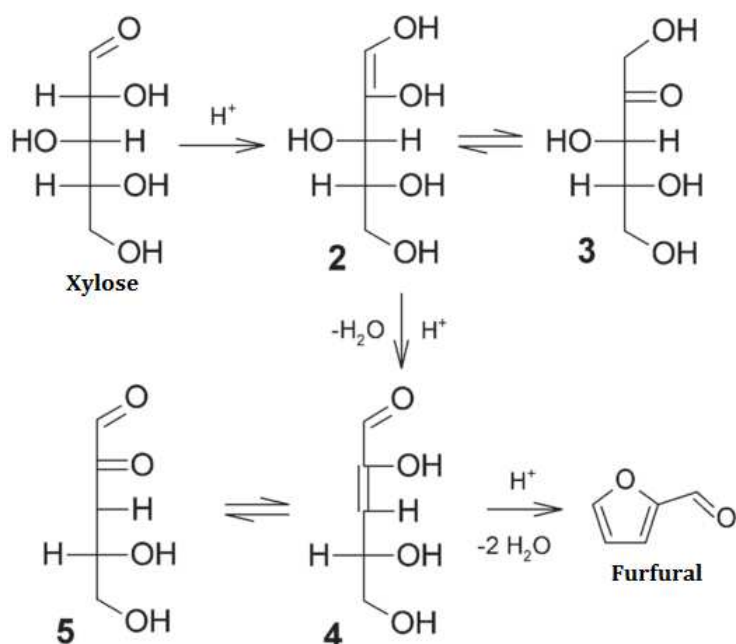


Figure II.11 : mécanisme de formation du furfural *via* énolisation à partir du xylose (Danon et al., 2014)

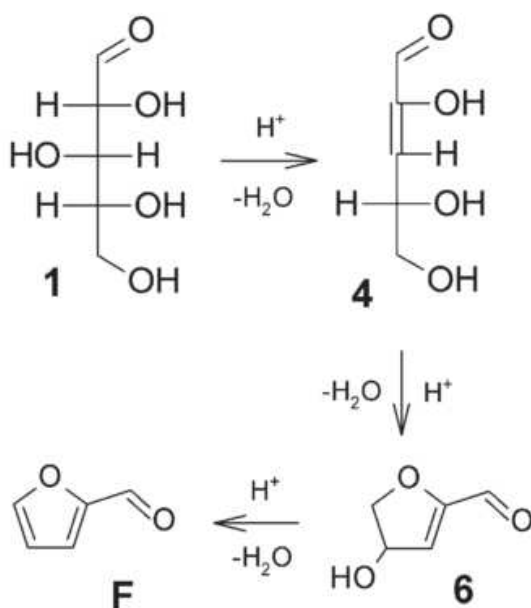


Figure II.12 : mécanisme de formation du furfural à partir du xylose *via* β -élimination

Par ailleurs, le premier mécanisme proposé par Hurd et al. (1932) pourrait aussi être une voie de formation du furfural. La **Figure II.12** décrit le mécanisme réactionnel. Dans ce chemin réactionnel, le xylose passe par une réaction d'élimination (β -élimination) formant un aldéhyde intermédiaire 2,3-insaturé (**4**) puis le furanose 2,5-anhydroxylose (**6**) à la suite d'une déshydratation. Une seconde déshydratation conduit à la formation du furfural.

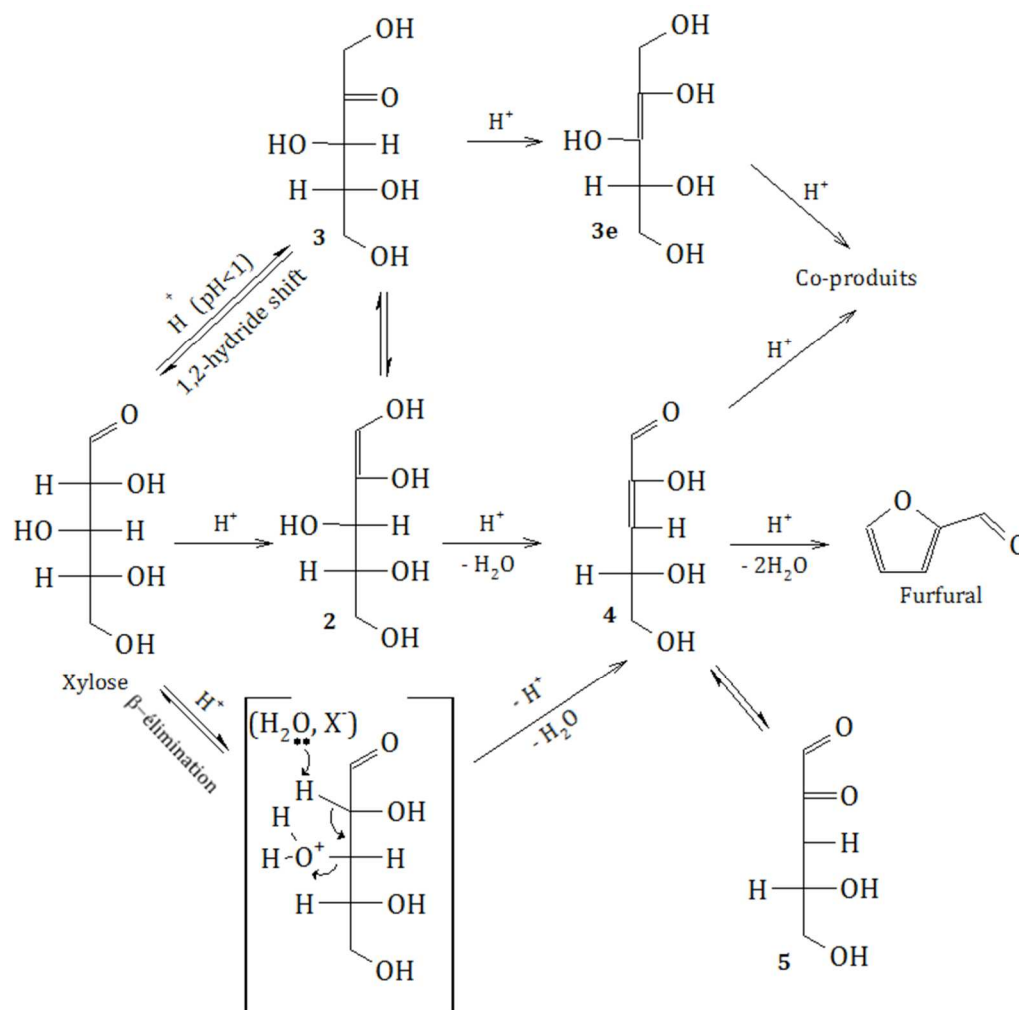


Figure II.13 : Les différentes voies réactionnelles conduisant à la formation du furfural à partir du xylose (Danon et al., 2014)

Les auteurs soulignent le fait qu'il est difficile de sélectionner un mécanisme prévalent; les mécanismes semblent plutôt coexister, l'un étant plus prépondérant que l'autre selon les différentes conditions réactionnelles (pH, température, nature du solvant). La **Figure II.13** regroupe l'ensemble des voies réactionnelles pouvant générer du furfural à partir du xylose.

II.2.2.3 Principaux aldéhydes retrouvés dans le cognac et leurs propriétés organoleptiques

L'éthanal représente 90% des aldéhydes présents dans le whisky, cognac, et le rhum (Nykänen & Suomalainen 1983). Pour cette raison, la concentration en éthanal déterminée dans les boissons distillées est souvent égale à la concentration totale en aldéhydes référencée dans la littérature (Maarse, 1991). Ronkainen, (1967) rapporte une concentration en éthanal de 10 ppm dans le cognac. Les notes olfactives associées à cette molécule sont les attributs solvant et piquant décrit dans le **Tableau II.4**.

Selon (Cortés et al., 2002), le seuil de perception de l'éthanal est à 25 mg/L. Dans les vodkas, une concentration en aldéhyde de 10 mg/L entraîne une apparition de ces notes sensorielles négatives. Ce n'est pas le cas pour le cognac, les brandies, le rhum, et le whisky. Dans ces boissons, les autres composés d'arômes masquent l'odeur des aldéhydes (Maarse, 1991).

Tableau II.4 : Principaux aldéhydes dosés dans le cognac (a : Nykanen et Suomalainen 1983 ; b : Quesada Granados et al. 1996, Caldeira et al. 2010, c : Guymon & Crowell 1968, Cantagrel et al. 1996 ; d : Badings, 1991, Czerny et al., 2008, e : Ronkainen, 1967

Composé	Nom d'usage	Concentration (ppm)	Notes olfactives
Ethanal	Acétaldéhyde	10 ^e	Solvant, piquanta ^{b,c}
Propanal	Propionaldéhyde	0,4-1,2 ^e	Malt, chocolat ^d
2-methylpropanal	Isobutanal	18-23 ^e	
2-methylbutanal			
3-methylbutanal	Isovaleraldehyde		Toffee, amande ^b
2-furaldehyde	Furfural	2,11-3,75 ^e	

Dans les spiritueux vieillies en fût de chêne, plusieurs composés, tels que la vanilline, le coniferaldéhyde, le sinapaldéhyde et le syringaldéhyde, sont apportés par le bois (Gimenez et al., 1996). Néanmoins, de nombreux aldéhydes comme le furfural, le 2-methylbutanal et le 3-methylbutanal, font également partie de la composition volatile des eaux-de-vie de cognac fraîchement distillées (Ledauphin et al., 2004), ainsi que d'autres type de brandies (Barroso et al., 1996; Ledauphin et al., 2010).

II.2.3 Acétals

L'acétal le plus fréquent est celui formé à partir de l'éthanal : le diethoxyethane ou diethylacetal appelé couramment acetal. Par la suite, le terme acétal désignera le diethoxyethane, et le terme « acétals » désignera la famille de composés.

Les aldéhydes sont des composés pouvant interagir avec les alcools pour former des hémiacétals. Dans un second temps, un deuxième alcool vient s'ajouter à l'hémiacétal formant ainsi une molécule d'acétal. La synthèse des acétals est une réaction réversible. Un acétal peut facilement être hydrolysé par un acide lorsque la concentration en alcool est faible (Misselhorn, 1975). Cette réaction peut avoir lieu au cours de la fermentation ainsi qu'au fur et à mesure de la distillation des eaux-de-vie de cognac.

L'acetal a été évalué entre 17-50 mg/L (Nykänen & Suomalainen 1983). Le **Tableau II.5** présente les différents acétals identifiés dans le cognac. L'impact sensoriel des acétals n'est pas clair.

Misselhorn, (1975) affirme qu'à l'exception de l'acétal, les concentrations de ces composés n'excèdent pas la concentration seuil. Le seuil de perception de l'acetal est de 76 mg/L (seuil mesuré dans une solution à 40 % v/v d'alcool). Cortés et al. (2002) indiquent que l'acetal possède une note sensorielle de pomme.

Tableau II.5 : Concentration d'acétals dans le cognac d'après (Schreier et al. 1979 et Nykänen et Suomalainen 1983)

Composés	Nom usuel	Concentration (mg/L)
1,1-diethoxyethane	Acetal	17-50
1,1,2-triethoxyethane		0.005-0.05
1,1,3-triethoxypropane		0.318-1.50
1,1-diethoxy-2-methylpropane		1.24-2.60
1,1-diethoxypropan-2-one		0.27-1.97
1,1-diethoxy-3-methylbutane		0.028-0.30

II.2.4 Esters

II.2.4.1 Formation par voie fermentaire

Les esters forment un groupe important de composés d'arômes dans les boissons distillées. Leurs quantités et proportions sont d'une importance majeure sur l'arôme perçu. Nordström, (1964) montre que les esters d'éthyle identifiés dans la bière sont principalement formés par les levures. Il démontre que cette formation est plus rapide que la réaction chimique d'estérification entre un acide et un alcool. Il indique également que la production d'esters est contrôlée enzymatiquement par l'acyl-CoA (**Figure II.14**).

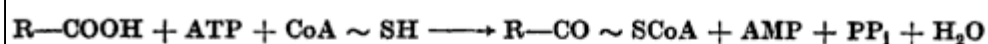
Ainsi, les esters se forment par 3 voies différentes :

1. par activation de l'acide carboxylique ;
2. par décarboxylation oxydative du 2-cétoacide ;
3. par un dérivé d'acyl-CoA à partir d'une synthèse d'un acide carboxylique à longue chaîne.

Comme attendu, les esters d'éthyle sont majoritaires car l'éthanol est l'alcool prédominant dans les boissons alcoolisées. Cependant, la présence d'alcools supérieurs participe à la formation d'esters correspondants. L'ajout de l'isobutanol et 3-methylbutanol à une solution de sucres fermentée par des levures *Saccharomyces cerevisiae* engendre la formation d'isobutyl acetate et d'isoamyl acetate respectivement (Nykänen and Nykänen, 1991).

Néanmoins, la biosynthèse des esters par les levures de fermentation est plus complexe que le mécanisme suggéré par Nordström, (1964). La question du rôle exact des levures dans la synthèse

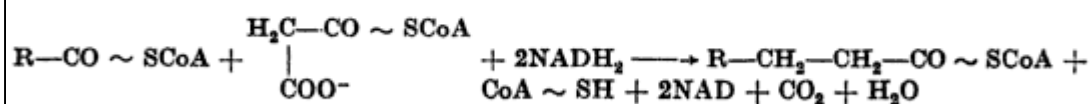
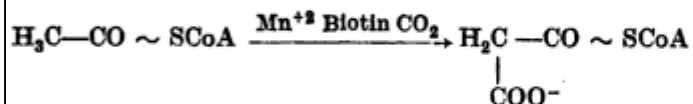
Par activation de l'acide carboxylique :



Par décarboxylation oxydative d'un acide 2-céto :



Par un dérivé d'acyl-CoA à partir d'une synthèse d'acide carboxylique à chaîne longue :



Formation des esters par alcoolyse des composés acyl-CoA :



Figure II.14 : Schéma de formation des esters d'après (Nordström 1964)

des esters est une thématique de recherche à part entière et la question de la synthèse des esters lors de la fermentation est un point clé, du fait de la contribution majeure de ces composés à l'arôme global d'un vin. Aux côtés de travaux s'intéressant aux voies métaboliques de production et à leur régulation (Saerens et al., 2010), d'autres équipes s'intéressent aux conditions de conduite de la fermentation pouvant influencer sur la production d'esters.

D'après la littérature, plusieurs paramètres peuvent influencer la formation des esters :

- Le type de levure. Des travaux conduits par Lehtonen and Suomalainen, (1977) ont porté sur la comparaison de production d'esters par 5 types de levures différentes : *Pichia membranae faciens*, *Hansenula anomala*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida krusei* et *Saccharomyces cerevisiae*. *Schizosaccharomyces pombe* produit la plus grande concentration d'esters, et *Hansenula anomala* et *Candida krusei* la plus basse production d'esters. Par ailleurs, le mélange des souches de levures au sein des moûts lors de la fermentation (Renault et al., 2015; Stribny et al., 2015) ainsi que la composition de la baie de raisin (Antalick et al., 2015; Boss et al., 2015) ont une influence majeure sur la composition en esters du vin. En effet, la levure *Torulaspora delbrueckii* associée à *Saccharomyces cerevisiae* influent sur le profil aromatique des vins en augmentant la concentration de d'isobutyl acetate ainsi que de l'isoamyl acetate (Renault et al., 2015). Stribny et al., (2015) ont analysé et comparé la production d'esters acetate dans trois espèces de *Saccharomyces* : *Saccharomyces kudriavzevii*, *Saccharomyces uvarum* et *Saccharomyces cerevisiae*. Les auteurs ont montré que *Saccharomyces uvarum* favorise la

production d'esters acetate. Notamment, à partir de l'acide aminé phenylalanine, *Saccharomyces uvarum* a produit la plus grande quantité d'acétate de 2-phenyléthyle.

- La production d'esters dépend de la présence d'oxygène au cours de la fermentation. Fujii et al. (1997) ont montré que l'oxygène inhibe la formation d'esters acetates dû à la réduction de l'activité enzymatique de l'acetyltransferase. Ainsi *S. cerevisiae* produit d'avantage d'isoamyl acetate, et deux fois plus d'ethyl hexanoate et d'ethyl octanoate en semiaérobie qu'en aérobie. Néanmoins ; il y a une diminution d'ethyl dodecanoate et d'ethyl hexadecanoate en anaérobie qu'en semiaérobie (Nykänen et Nykänen 1991).
- La composition chimique du milieu de fermentation influe sur la formation d'ethyl esters. Saerens et al., (2008) ont montré que plus les concentrations en acides carboxyliques insaturés (l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linolénique) augmentent au sein du milieu fermentaire, plus la production d'esters diminue. Par ailleurs, plusieurs études, regroupées dans la revue de Bell and Henschke, (2005), ont évalué l'influence de la teneur en azote assimilable dans le milieu fermentaire sur la formation de composés d'arôme comme les ethyl esters. Les études montrent qu'une augmentation en concentration d'azote entraine une augmentation en production d'ethyl esters (Ugliano et al., 2010; Torrea et al., 2011; Rollero et al., 2015).
- La température à laquelle se déroule la fermentation peut affecter la production d'esters. En effet, une température de fermentation plus importante amène une augmentation en teneur en ethyl octanoate et decanoate (Saerens et al., 2008). Au contraire, les teneurs les plus importantes en esters sont obtenues à plus basses températures (15 °C) (Molina et al., 2007). Suomalainen, (1981) suggère que l'augmentation de la température de fermentation conduit à des teneurs en esters plus élevées par une excrétion et/ou une autolyse plus efficace de la levure. Toutefois, un effet de la température sur l'équilibre thermodynamique de la solubilité de l'ester au sein de la matrice cellulaire et le milieux aqueux peut être une autre explication (Saerens et al., 2008).

II.2.4.2 Formation par voie chimique

Selon Méjane and Piquois, (1975), des esters peuvent se former au cours de la distillation par réaction entre les acides et les alcools (**Figure II.15**). Par ailleurs, l'augmentation de la température du vin au cours de la distillation permettrait d'atteindre plus rapidement l'équilibre de la réaction d'estérification.

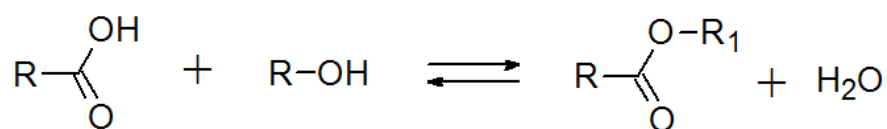


Figure II.15 : Réaction d'estérification

En effet, la réaction étant presque athermique, une variation de la température n'a aucune influence sur l'état d'équilibre (selon la loi de van 't Hoff). L'augmentation de la température du milieu réactionnel est donc sans influence sur le taux d'avancement final, mais influence favorablement la cinétique (Aslam et al., 2000). Cependant, la variation des teneurs en alcools et en eau tout au long du procédé influe sur l'équilibre de la réaction. Au cours de la distillation discontinue, l'éthanol et les alcools supérieurs se volatilisent et les teneurs contenues dans la solution en chaudière diminuent. Ainsi, une forte teneur en eau favorisera la réaction inverse et réduira le taux d'estérification (Meng et al., 2011).

II.2.4.3 Principaux esters retrouvés dans le cognac et leurs propriétés organoleptiques

Schreier et al., (1979) et Otsuka et al., (1979) ont effectué d'importants travaux sur l'identification des esters dans le cognac vieilli. Les esters identifiés sont présentés dans le **Tableau II.6**. Ils sont classés en quatre groupes selon leur nombre de carbones ou la présence d'atomes d'oxygène supplémentaires.

Tableau II.6 : Identification et quantification des principaux esters dans le cognac (après maturation en fût de chêne ≥ 2 ans). ^a(Otsuka et al., 1979) ; ^b(Nijssen, 1996) ; ^c(Puech et al., 1984) ; ^d(Schreier et al., 1979)

	Composé (IUPAC)	Formule	Nom d'usage	Concentration (ppm)
C1 à C7	Ethyl methanoate	C ₃ H ₆ O ₂	Ethyl formate	0.5 ^b
	Ethyl ethanoate	C ₄ H ₈ O ₂	Ethyl acetate	185-419 ^a
	Ethyl propanoate	C ₅ H ₁₀ O ₂		2 ^c
	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	Ethyl butyrate	1,1 ^d
	3-methylbutyl acetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	Isoamyl acetate	1,5 ^d
C8 à C14	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	Ethyl caproate	2,5 ^d ; 1, 3-2,2 ^a
	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	Ethyl caprylate	12 ^d ; 12-20 ^a
	Ethyl decanoate	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Ethyl caprate	13 ^d ; 21-35,6 ^a
	Ethyl dodecanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Ethyl laurate	2,3 ^d ; 5-9 ^a
C15 et +	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Ethyl palmitate	0,1 ^d
Ester oxygéné	Ethyl 2-hydroxypropanoate	C ₅ H ₁₀ O ₃	Ethyl lactate	22 ^d

La richesse en esters et leurs proportions ont un impact majeur sur les propriétés organoleptiques des eaux-de-vie de cognac et par conséquent sur les cognacs vieillies (Ferrari et al., 2004). Ces composés volatils expliquent en partie la très grande diversité qui existe sur la perception sensorielle de ces produits (Lafon et al., 1964; Ferrari et al., 2004; Ledauphin et al., 2010).

Ethyl ethanoate (ethyl acetate) est l'ester majoritaire dans le cognac. Il peut représenter jusqu'à 95 % de la quantité totale d'esters dans les cognacs (**Tableau II.6**). Son odeur de solvant et d'alcool est facilement reconnaissable.

Présents à de plus faibles concentrations, les ethyls hexanoate et octanoate sont très importants d'un point de vue qualitatif pour le profil aromatique des cognacs car ils sont responsables des notes fruitées, telles que l'ananas, la banane ou le kiwi (Ferrari et al., 2004).

II.2.5 Norisoprénoides

Aux côtés des composés volatils des familles précitées, constituant la fraction libre de l'arôme d'un vin, il existe d'autres groupes de composés, provenant de la variété de raisin, appelés précurseurs ou fraction liée à l'arôme final, et qui constitue le potentiel aromatique du vin. Celui-ci est formé par des composés non volatils mais susceptibles de libérer des arômes variétaux après hydrolyse, durant la vinification et selon la nature du précurseur (Razungles et al., 1993).

Les caroténoïdes sont connus comme étant les précurseurs formant les norisoprénoides donnant une typicité aromatique aux vins. Des études ont montré que les norisoprénoides pouvaient provenir d'une dégradation des caroténoïdes par voie enzymatique et non enzymatique (Isoe et al., 1973; Kanasawud and Crouzet, 1990; Herderich et al., 1992; Winterhalter and Schreier, 1994; Baumes et al., 2002). La plupart des norisoprénoides peuvent se former à partir de la dégradation directe des caroténoïdes ou via les intermédiaires glycosylés (Gunata et al., 1985; Strauss et al., 1987; Skouroumounis et al., 1992). Les norisoprénoides sous la forme libre participent au bouquet organoleptique de la solution tandis que ceux glycosylés ne possèdent pas de qualité olfactive. Ces derniers se libéreront de leur glycosyl par une hydrolyse enzymatique ou acide. La **Figure II.16** schématise l'ensemble des voies réactionnelles pouvant amener à la formation de norisoprénoides. La dégradation directe des caroténoïdes et l'hydrolyse des composés glycosylés peuvent intervenir à différentes étapes de l'élaboration des eaux-de-vie de cognac (maturation de du raisin, fermentation...). Nous nous proposons de décrire ces deux voies réactionnelles tout en sachant qu'elles ne sont pas exclusives à une étape du procédé en particulier.

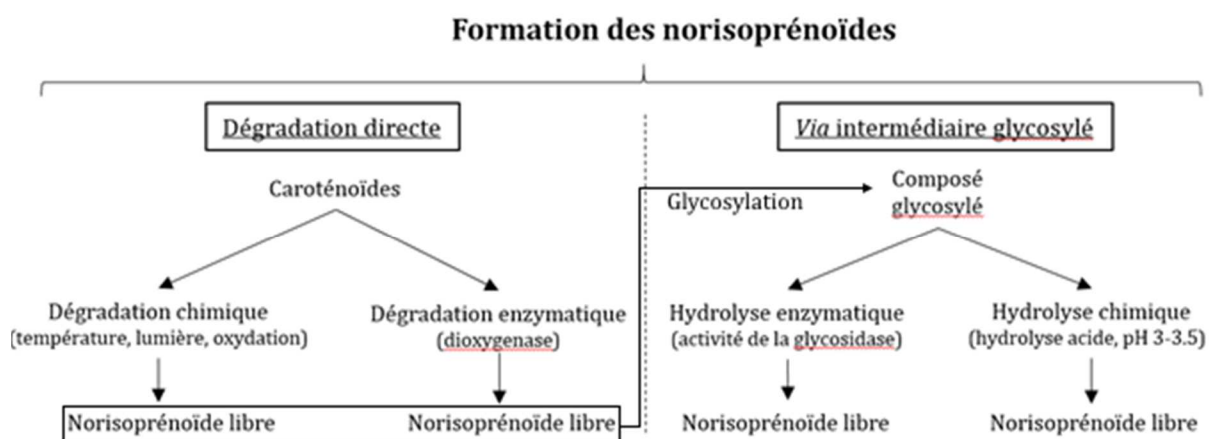
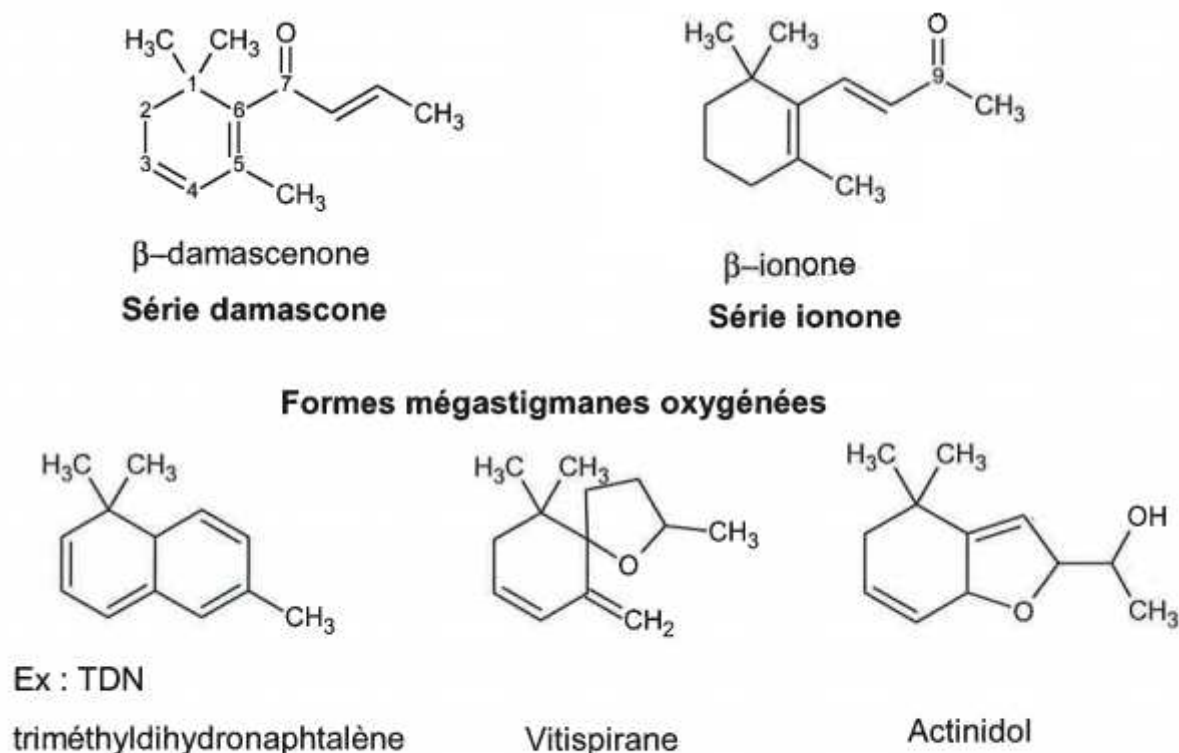


Figure II.16 : Les différentes voies réactionnelles formant les norisoprénoïdes sous forme libre.
Adapté de (Mendes-Pinto, 2009).

II.2.5.1 Structures chimiques et propriétés organoleptiques des norisoprénoïdes

Ces norisoprénoïdes peuvent être classés en deux groupes : ceux ayant une structure mégastigmanes et les non mégastigmanes. Le squelette mégastigmane se caractérise par un cycle substitué sur les carbones 1, 5 et 6. Une chaîne aliphatique insaturée à quatre atomes de carbone est fixée sur le carbone 6. Un atome d'oxygène est lié sur le carbone 7 (série damascone) ou sur le carbone 9 (série ionone). La **Figure II.17** illustre ces deux classes.



Formes non mégastigmanes
Figure II.17 : Les deux classes de norisoprénoïdes

La β -damascénone a un seuil de perception de 2 ng/L dans l'eau (Buttery et al., 1990). Elle présente des notes de « miel et de fleur » (Ferrari et al. 2004). Le cognac contient entre 102 et 257 $\mu\text{g/L}$ de β -damascénone (Schreier et al. 1979).

La β -ionone a été identifiée par (Ter Heide et al. 1978) dans le cognac. Ce composé a des notes olfactives de « violette/bois/framboise » et un seuil de perception de 7 ng/L (Etiévant, 1991).

La molécule de vitispirane a une odeur de « camphre/eucalyptus » (Drawert and Rapp, 1968) et a été identifiée par (Schreier et al. 1979) dans le cognac. Le vitispirane a deux noyaux chiraux et peut donc exister sous 4 stéréo-isomères. Chaque paire a des propriétés sensorielles différentes : la paire (2R, 5R) et (2S, 5S) a des notes fruitées tandis que la paire (2S, 5R) et (2R, 5S) a des notes boisées et terreuses (Schulte-Elte et al., 1978). La concentration en vitispiranes augmente au cours du vieillissement du vin (Etiévant 1991). Cependant, son mécanisme de formation n'est pas précisé dans l'étude.

Le 1,1,6-Triméthyl-1,2-dihydronaphtalène (TDN) est considéré comme un composé d'arôme majeur contribuant à la note de kérosène caractéristique des vins de Riesling vieillis (Simpson R.F. Miller G.C., 1984). Ce norisoprénoïde peut devenir un défaut sensoriel dans le vin ou les distillats de vin lorsque celui-ci est présent à des concentrations importantes. Le triméthyl-dihydronaphtalène (TDN) a un seuil de perception de 6 mg/L dans une eau-de-vie nouvelle de Cognac. La concentration en TDN augmente au cours du vieillissement du vin (Etiévant 1991). Toutefois, le mécanisme exact par lequel ce composé augmente n'est pas précisé.

II.2.5.2 Dégradation des caroténoïdes

La formation d'un norisoprénoïde à partir d'un caroténoïde requiert 3 étapes : (i) une scission initiale *via* la dioxygénase, (ii) la transformation enzymatique du produit de la scission afin de former les composés intermédiaires non volatils et (iii) l'hydrolyse acide permettant la conversion des composés intermédiaires non volatils en composés d'arôme (Winterhalter et Rouseff, 2002). Un exemple illustrant ces 3 étapes est la formation de la β -damascénone à partir de la néoxanthine par des réactions enzymatiques et non enzymatique (Isoe et al., 1973) (**Figure II.18**). Dans très peu de cas, le norisoprénoïde est obtenu après la première étape de scission. C'est notamment le cas pour la formation de l' α - et β -ionone (Winterhalter et Rouseff, 2002).

La cétone "grasshopper" est un intermédiaire qui est ensuite réduit en un triol allénique par action enzymatique. Puis, ce dernier suit le réarrangement de Meyer-Schuster (Edens et al., 1977) et subit une déshydratation en milieu acide pour former la β -damascenone. Par ailleurs, la présence de la cétone "grasshopper" et de ses dérivés dans les baies de raisin et les vins (Winterhalter et al., 1990; Aznar et al., 2001; Daniel et al., 2008) soutient cette voie de synthèse quant à la génération de la β -damascenone dans ces matrices.

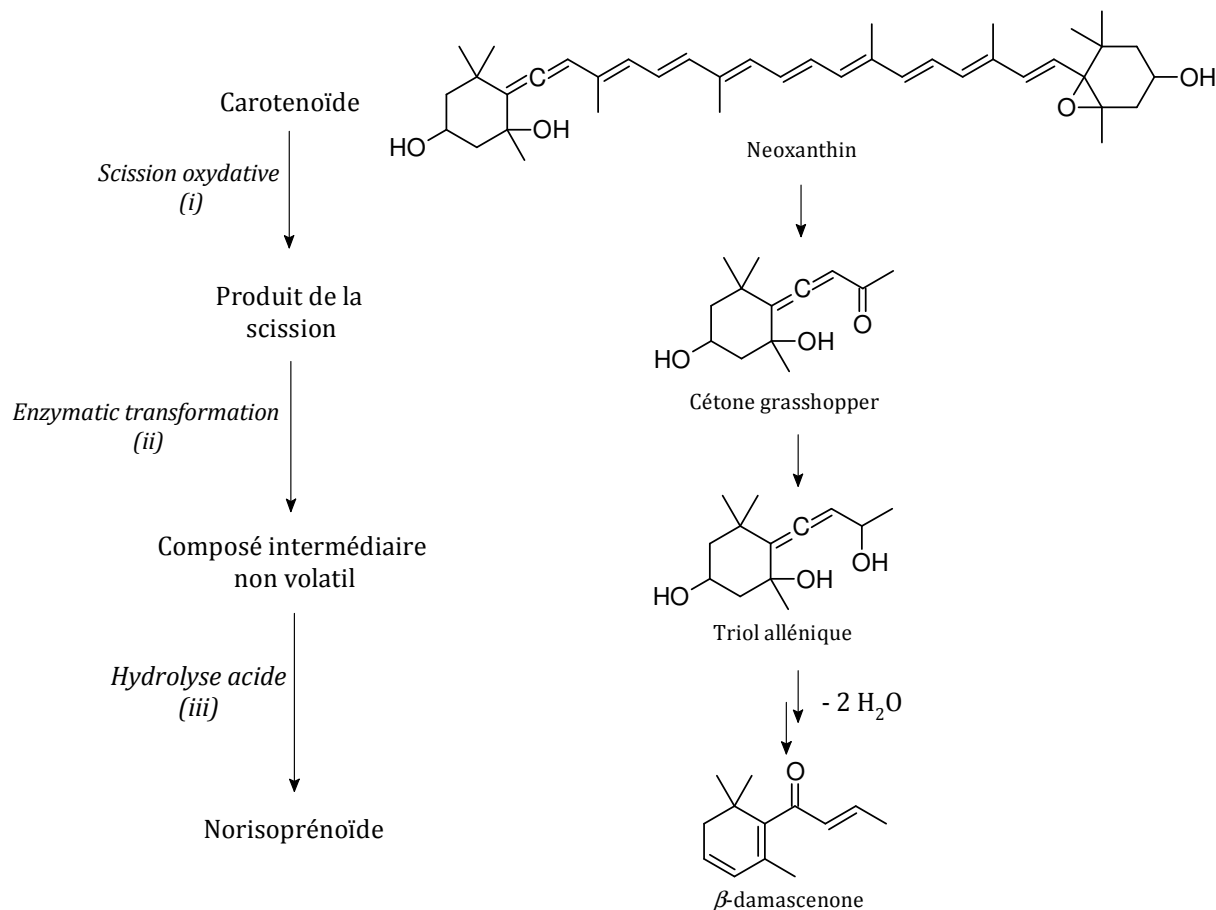


Figure II.18: Mécanisme général de la dégradation des caroténoïdes pour former les norisoprénoloïdes adapté de (Winterhalter et Rouseff, 2002; Mendes-Pinto, 2009) .

II.2.5.1.1 Voie enzymatique de dégradation

La biodégradation des caroténoïdes est supposée être catalysée par la dioxygénase opérant une scission sur le caroténoïde. Les dernières études confirment l'implication de la dioxygénase dans la formation de norisoprénoloïdes (Baumes et al., 2002; Mathieu et al., 2005; Young et al., 2012). Par ailleurs, Mathieu et al., (2005) ont pu identifier le gène VvCCD1 comme étant responsable de la production des enzymes de type dioxygénase. Ces travaux ont également montré que l'expression du gène augmentait lors de la véraison et qu'un retard de 1-2 semaines avait été observé entre la transcription du gène et l'augmentation en norisoprénoloïdes glycosylés. Ainsi, la dégradation directe des caroténoïdes a lieu dès l'étape de véraison de la vendange jusqu'à sa

maturation finale (Guedes De Pinho et al., 2001; Yuan and Qian, 2016). Les premiers norisoprénoïdes sous la forme libre ou glycosylée peuvent donc déjà apparaître dans les moûts. Des travaux ont porté sur la purification de l'enzyme caroténase contenue dans le coing afin d'évaluer les facteurs influents sur son activité enzymatique (Fleischmann et al., 2002). D'après l'étude, la température optimale de l'activité enzymatique est au-dessus de 50 °C. La gamme de pH 6,0-9,0 choisie dans cette étude, n'influe pas sur l'activité de la caroténase. (Mathieu et al. (2005, 2007) ont également démontré l'action des enzymes de type dioxygénases dans la dégradation des caroténoïdes ce qui a permis de déterminer le rôle significatif que joue ces enzymes sur la biosynthèse des norisoprénoïdes dans la baie. Malgré la contribution de ces différents travaux, l'ensemble de l'activité enzymatique impliquée dans la formation des norisoprénoïdes reste à caractériser (Winterhalter and Rouseff, 2002; Mathieu et al., 2005; Yuan and Qian, 2016).

II.2.5.1.2 Voies de dégradation chimiques

L'oxydation de la β -carotène sous l'action de la lumière fut proposée par Isoe et al., (1969) formant ainsi la β -ionone. L'ampleur de cette réaction dépend de la teneur en oxygène et de l'intensité lumineuse. Sachant que l'exposition lumineuse est un facteur primordial pour le développement de la vigne, la photo-oxygénation du β -carotène semble être une voie de synthèse pertinente pour expliquer la présence de β -ionone dans les baies de raisin *in vivo*.

La dégradation thermique du β -carotène dans un milieu aqueux en présence d'oxygène et placé à 97 °C pendant 3 h a conduit à la formation de la β -ionone, β -cyclocitral, DHA (dihydroactinidiolide) et d'autres produits de réaction (Kanasawud and Crouzet, 1990). Les auteurs ont montré que cette dégradation thermique du β -carotène est dépendante de la durée de réaction et de la température (Kanasawud and Crouzet, 1990; Crouzet et al., 2001). Marais, (1992) a également étudié la dégradation thermique du β -carotène et de la lutéine dans une solution d'éthanol à 10 % v/v et à pH 3 (ajusté à l'aide d'acide tartrique) à 60 °C pendant 3 h. La dégradation du β -carotène a produit du β -cyclocitral, de la β -ionone, le 5,6-epoxy- β -ionone, le DHA, et le 4-oxo- β -ionone. Ces produits sont similaires à ceux retrouvés après dégradation en milieu aqueux (Kanasawud and Crouzet, 1990). La dégradation de la lutéine a formé le 2,3-dehydro- α -ionone, le 3-oxo- α -ionone et le 3-hydroxy- β -ionone.

Des travaux menés par Bezman et al. (2005) ont porté sur l'étude d'un système modèle pour explorer les conditions dans lesquelles la néoxanthine pouvait se dégrader en β -damascenone uniquement par oxydation thermique, sans l'implication d'activité enzymatique. Ces auteurs ont

montré que la formation de β -damascenone était possible sans action enzymatique. Par ailleurs, ils ont observé que la dégradation de la néoxanthine était dépendante du pH avec un optimum de pH = 5 (**Figure II.19**).

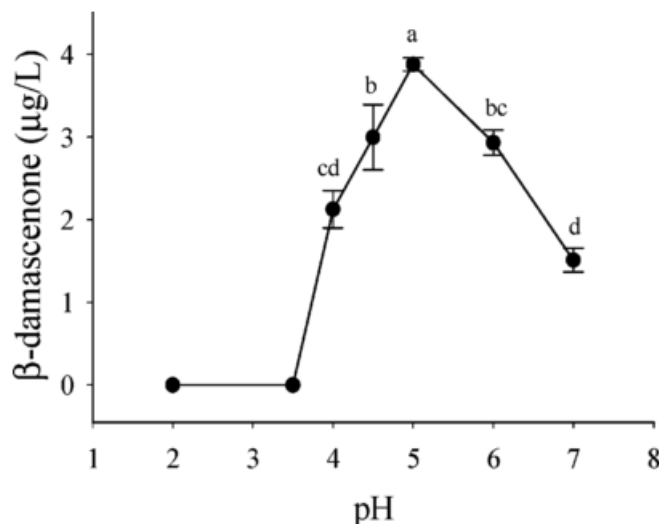


Figure II.19: Courbe montrant l'effet du pH sur la formation en β -damascenone (Bezman et al., 2005).

Ce pH optimal est surprenant car un milieu plus acide semblait être plus propice au réarrangement par hydrolyse acide du triol allénique (**Figure II.18**) via le réarrangement de Meyer-Schuster suivi d'une déshydratation (Skouroumounis et al., 1992). Il en va de même pour les précurseurs glycoconjugués de la β -damascenone présents dans les produits naturels.

Bezman et al. (2005) ont émis l'hypothèse (non vérifiée) que la formation d'un diol vicinal en tant qu'intermédiaire de la dégradation de la néoxanthine pouvait réagir à faible pH via le réarrangement de Pinacol (Fox and Whitesell, 2004), empêchant ainsi la formation du triol allénique.

De plus, Bezman et al. (2005) ont montré que la dégradation de la néoxanthine par voie thermique est dépendante de la température. En effet, la dégradation fournit un rendement maximal lorsque celle-ci est chauffée en deux phases distinctes. La phase 1 correspond à la chauffe douce où le milieu réactionnel est placé à 60°C pendant 90 min. La solution est ensuite placée à 110°C pendant 20 min, ce qui correspond à la phase 2. La **Figure II.20** schématise le procédé et les hypothèses des auteurs. Ce mode opératoire a permis d'obtenir un rendement molaire de 0.04%, ce qui est un pourcentage suffisant pour avoir un impact organoleptique.

L'ensemble de ces études montrent que des caroténoïdes et leurs produits intermédiaires de dégradation placés dans des conditions de distillation formeraient des norisoprénoïdes au cours de la distillation des eaux-de-vie de cognac.

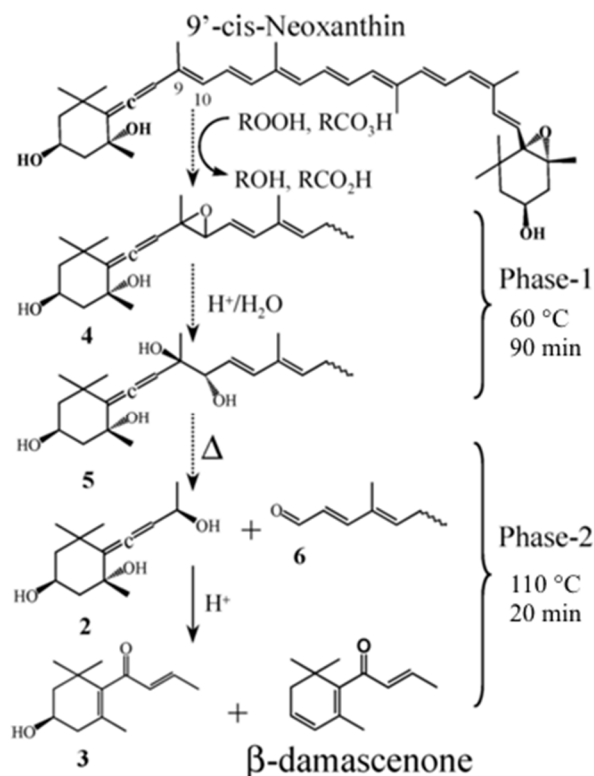


Figure II.20 : Schéma hypothétique indiquant l'implication possible des phases 1 et 2 dans l'oxydation thermique de la néoxanthine en β-damascenone (Bezman et al., 2005)

II.2.5.3 Formation des norisoprénoïdes via l'hydrolyse acide des précurseurs glycosylés

La **Figure II.21** présente une voie réactionnelle possible pouvant former le TDN mais également le riesling acetal et le 4-(2,3,6-triméthylphényl)-butan-2-one (TMPBA). La forme glycosylée du 2,6,10,10-tetraméthyl-1-oxaspiro[4.5]dec-6-ene-2,8-diol (composé 1a) détectée dans les vins de Riesling a été identifiée comme un précurseur du TDN après une hydrolyse acide tandis que le 1,4-dihydroxy-7,8-dihydro-β-ionone (composé 1b) a été montré comme pouvant former le Riesling acetal (Winterhalter, 1991). Par ailleurs, il a été démontré que le riesling acetal et le megastigma-5,7-dien-3,4,9-triol pouvaient également être des précurseurs du TDN (Daniel et al., 2009).

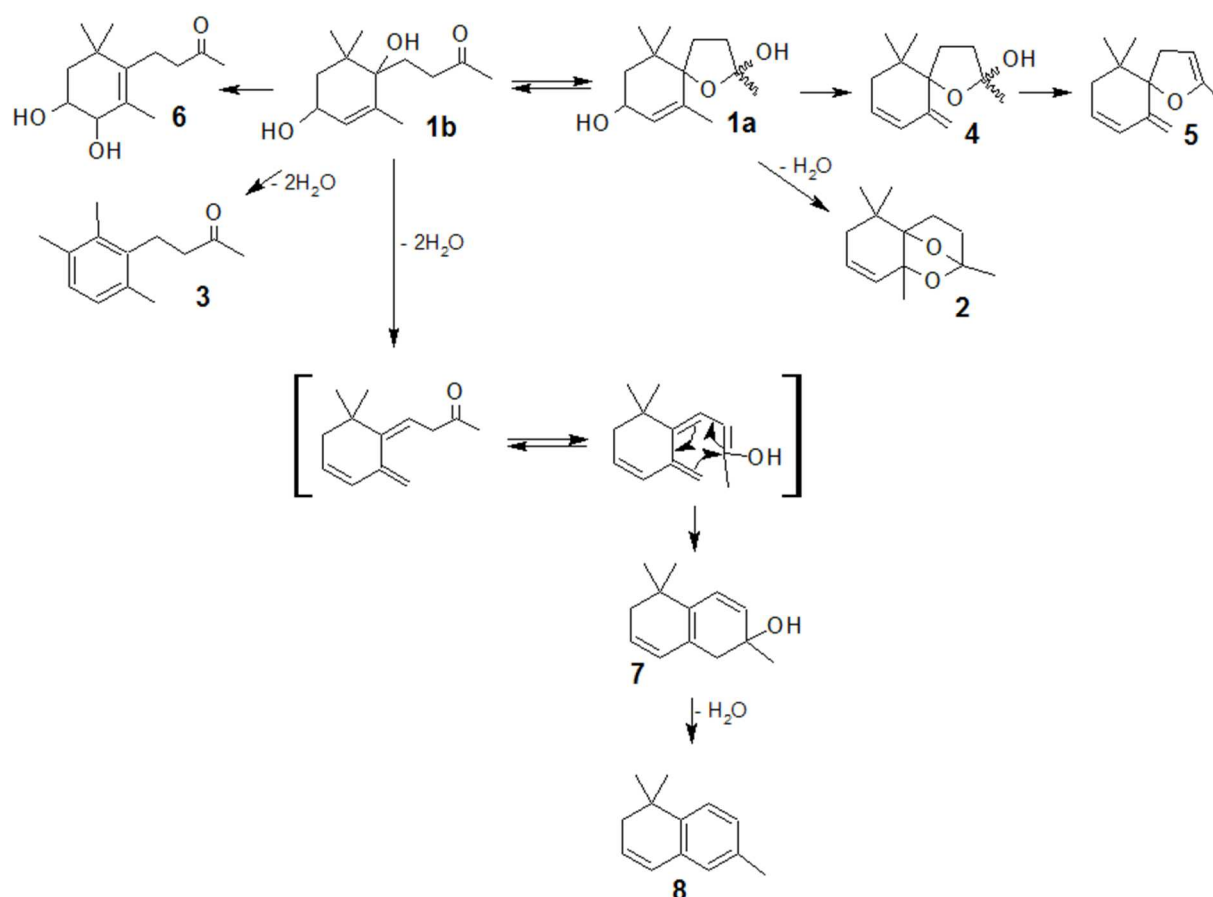


Figure II.21 : Mécanisme de formation du TDN (1,1,6-trimethyldihydronaphtalène) et Riesling acetal et TMPBA. (1a) 6,10,10-triméthyl-2-oxaspiro[4.5]dec-6-ène-2,8-diols, (1b) 3,6-dihydroxy-4,5-didéhydro-5,6,7,8-tétrahydro- β -ionone, (2) Riesling acétal, (3) TMPBA (4-(2,3,6-triméthylphényl)-butan-2-one), (4) 10,10-diméthyl-6-méthylène-2-oxaspiro[4.5]dec-7-ène-2-ol, (5) 10,10-diméthyl-2-oxaspiro[4.5]dec-2,7-diène, (6) 3-4-dihydroxy-7,8-dihydro- β -ionone, (7) 6-hydroxy-1,1,6-triméthyl-1,2,5,6-tétrahydro-naphtalène, (8) TDN. Adapté de (Strauss et al., 1987; Mendes-Pinto, 2009)

Dans le cas de la β -damascenone, une augmentation significative de sa teneur a été observée lorsque des produits frais sont sujets à des traitements thermiques. Kumazawa et Masuda, (2001) ont infusé des feuilles de thé dans de l'eau à 70 °C pendant 5 min. Ils ont observé une augmentation de la teneur en β -damascenone. Chevance et al., (2002) ont placé des moûts de bière à 40 °C pendant 5 jours et ont également observé l'augmentation de la concentration de β -damascenone. Il a aussi été observé que la torréfaction des grains de café Arabica provoquait une augmentation de la teneur en β -damascenone (Czerny and Grosch, 2000). L'hydrolyse des précurseurs glycoconjugués et libres, contenus dans un milieu acide et à haute température, peut expliquer cette tendance. Curieusement, le café torréfié ou le moût de bière possèdent un pH aux alentours de 5 ou plus. Or, ces deux milieux contiennent des teneurs en β -damascenone comprises entre 255 et 450 ppb, parmi les plus hautes trouvées dans les produits alimentaires (Czerny and Grosch,

2000; Chevance et al., 2002), et ceci dans des conditions où l'hydrolyse acide n'est pas privilégiée. D'autre part, ces deux produits (grains de café et le moût de bière) sont exposés à de fortes températures. Pour le café, un mécanisme de dégradation de caroténoïdes formant de la β -damascenone dû à la chauffe, l'oxydation et l'isomérisation a été proposé, mais aucune preuve démontrant une dégradation chimique directe de la néoxanthine n'a pu être fournie.

II.2.6 Terpènes

II.2.6.1 Formation des terpènes lors de la fermentation

Les principaux terpènes retrouvés dans le cognac possèdent deux isoprènes formant des composés en C_{10} (plus précisément appelés monoterpènes) ayant un impact sensoriel important dans les vins. Cette partie traitera donc seulement des monoterpènes C_{10} que l'on continuera d'appeler « terpènes » dans cette étude.

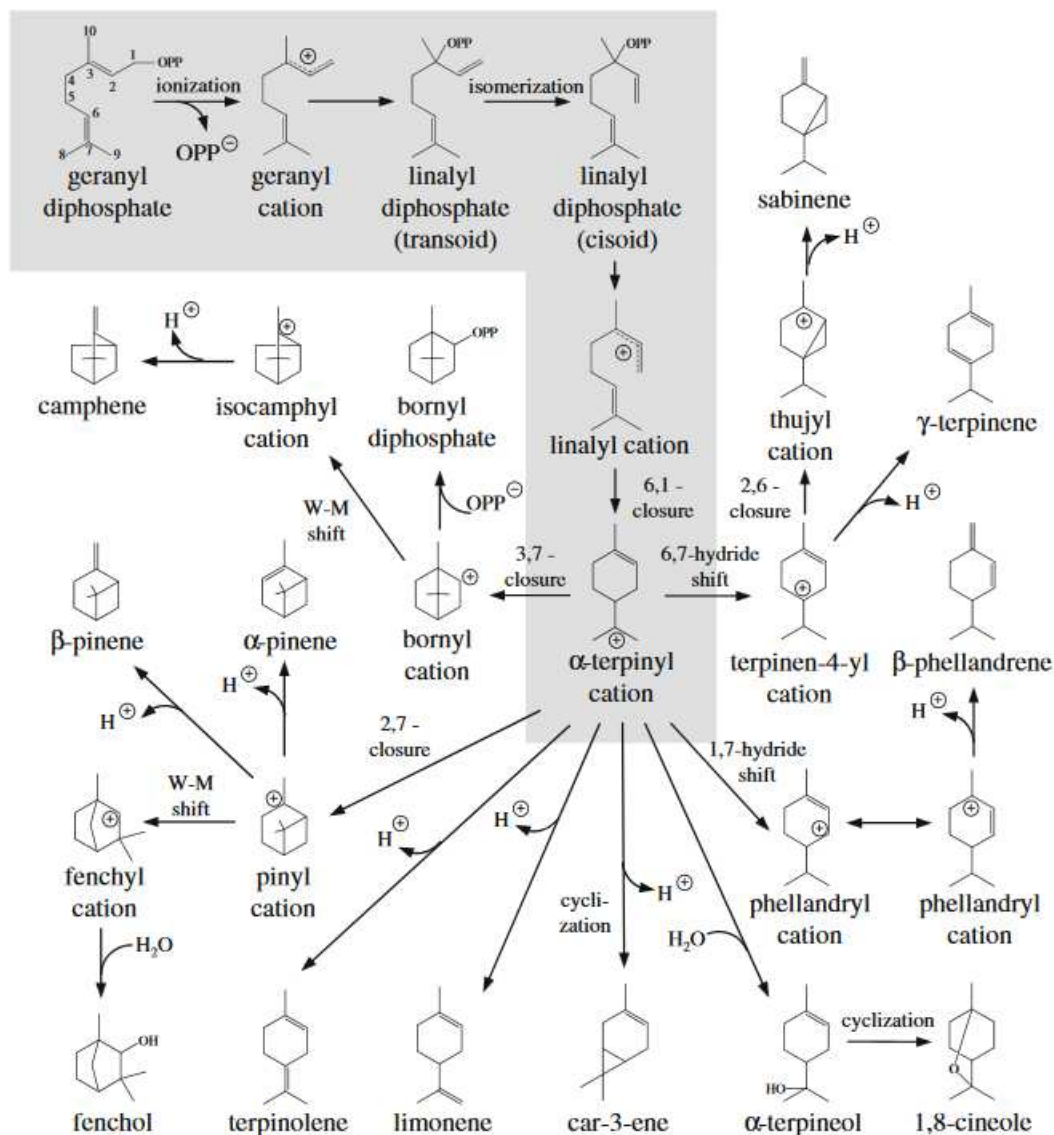
Les nombreux squelettes carbonés composant les terpènes viennent de la synthèse par une classe d'enzyme connue sous le nom de « terpène-synthase ». Ces catalyseurs convertissent les composés diphosphates acycliques en composés cyclique et acyclique selon l'enzyme utilisée. La principale raison pour l'existence de nombreuses structures chez les terpènes vient du grand nombre de terpène-synthases et de leur capacité à former différents produits à partir d'un même substrat.

L'essentiel du mécanisme de formation des terpènes fut élucidé par Croteau et son équipe (Croteau, 1986, 1987; Croteau et al., 1986). Le mécanisme *via* les terpène-synthases commence avec l'ionisation du geranyl diphosphate. Le carbocation en résultant peut subir différents types de cyclisation, de transferts d'hydrure et de ré-arrangements avant que la réaction se termine par une déprotonation ou une attaque nucléophile de l'eau. Les mécanismes de formation des terpènes cycliques (**Figure II.22A**) et acycliques (**Figure II.22B**) sont décrits séparément. La formation de terpènes cycliques requiert l'isomérisation préliminaire du geranyl cation en intermédiaire linalyl capable de se cycliser. La formation du composé cyclique initial, l' α -terpenyl cation, permet une seconde cyclisation. La formation du linalol, myrcene et β -ocimene peut s'effectuer soit à partir du geranyl cation, soit du linalyl cation.

Une fois les terpènes formés, ils peuvent subir une glycosylation *via* l'enzyme glycosyltransferase. Notons que la formation de ces précurseurs glycosylés est similaire aux norisoprénoïdes (Günata et al., 1985) comme vu précédemment (II.2.5.3). La plupart des composés volatils des végétaux

étant hydrophobes, ils ont besoin d'une liaison à un sucre fortement hydrosoluble pour migrer dans les différents organes des plantes.

A



B

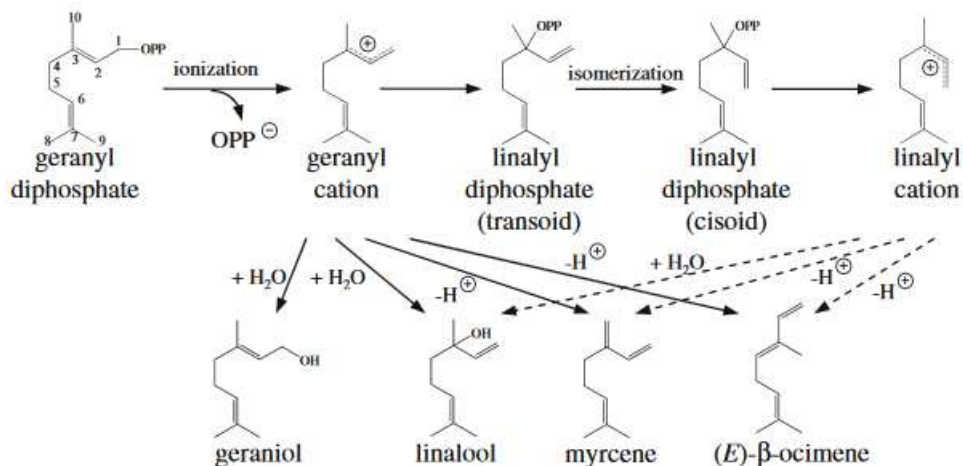


Figure II.22 : Mécanisme de formation des terpènes à partir du geranyl diphosphate (GPP)

II.2.6.2 Hydrolyse acide des précurseurs glycosylés

Dans les vignes, les terpènes existent sous deux formes : libre et glycosylée. Les principaux terpènes libres présents dans les vignes sont le linalool, le nerol, le geraniol et le citronellol (Park and Noble, 1993). Les terpènes liés peuvent être libérés via la réaction enzymatique des glycosidases présentes dans les levures durant la vinification (Park and Noble, 1993). Ainsi, promouvoir cette réaction est un moyen d'augmenter la teneur en terpènes dans les vins (Günata et al. 1988). Toutefois, des travaux portant sur l'évaluation de l'activité β -glycosidique de la levure *Oenococcus oeni* sur les composés d'arôme glycosylés durant la fermentation malolactique d'un vin de type Tannat (Boido et al., 2002). La quantité de composés volatils libres est que légèrement modifiée par l'action de la fermentation malolactique ce qui indique que la scission de la liaison glycosidique par l'activité β -glycosidique de l'*O. oeni* ne semble pas augmenter la quantité des aglycones de manière significative.

L'hydrolyse acide des terpènes glycosylés peut induire un réarrangement moléculaire des terpènes ce qui peut les transformer en d'autres composés. Cette déglycosylation par hydrolyse acide peut refléter des réactions intervenant potentiellement lors de la maturation du vin et lors de la distillation de ce dernier.

Des travaux expérimentaux ont été effectués à partir de moûts de raisin et sur des terpènes glycosylés extraits des moûts. Les résultats ont montré que différents terpènes sont produits lorsqu'ils sont hydrolysés à différents pH. Ainsi, les formes isomères de l'ociménol semblent être formées par hydrolyse dans le moût à pH 1, au détriment du linalool, nerol, et geraniol. Ces 3 derniers composés sont formés à pH 3 (Williams et al. 1982). Les conditions plus acides amènent plus de réarrangements des terpènes (Williams et al., 1982b). Pour l'hydrolyse à pH 3, le linalyl, le geranyl et le neryl- β -D-glycosides ont formé les mêmes produits principaux : le linalool et l' α -terpineol. De plus, les geraniol, (E)- et (Z)-ocimène, l' α -terpinène et le myrcène furent détectés après l'hydrolyse du linalyl et du geranyl. L'hydrolyse de l' α -terpenyl- β -D-glycoside a donné majoritairement de l' α -terpineol. Contrairement aux produits formés à pH 3, les précurseurs hydrolysés à pH 1 ont donné peu de linalool et pas de geraniol ni de nerol. Alors que l' α -terpineol est le principal produit à pH 1, il est accompagné par plusieurs autres terpènes ne venant pas des précurseurs glycosylés lors de l'hydrolyse à pH 3 (Williams et al., 1982b).

Ainsi, il est important de noter que les produits issus du réarrangement par hydrolyse acide ne sont pas forcément issus des précurseurs glycosylés du moût. Bien que les composés glycosylés prédominants dans le moût soient les dérivés geranyl, linalyl et neryl et seulement des quantités

traces d' α -terpenyl glycosides, les produits d'hydrolyse à pH 3 sont principalement le linalool, l' α -terpineol, et le geraniol relativement moins abondant. La plupart des composés formés après hydrolyse acide à pH 3 sont les terpènes libres déjà présents dans le moût (Cordonnier et Bayonove, 1974; Sarry et Günata, 2004). Il a été vu qu'un chauffage à 100 °C pendant 20 min du moût à pH 3 altérerait le caractère sensoriel en donnant au moût un arôme d'eucalyptus pouvant être attribué à la présence importante de 1,8-terpine.

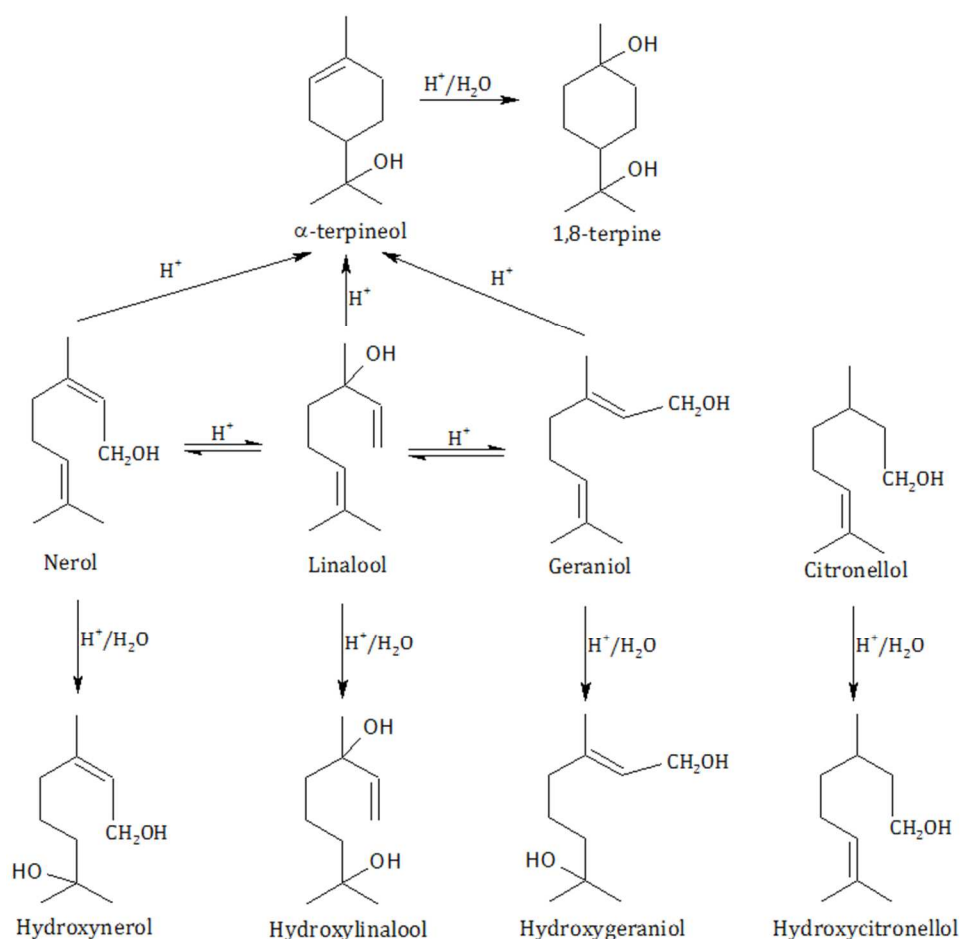


Figure II.23 : Réarrangement des terpènes catalysé en milieu acide (Rapp et Mandery, 1986)

Pour plusieurs composés (linalool, geraniol, hotrienol et les isomères de linalool oxide), une évidente diminution en concentration a été observée lors de la maturation des vins (Rapp and Mandery 1986). De plus, des composés sont formés alors qu'ils n'étaient pas présents dans les vins jeunes : entre autres le *cis*- et *trans*-1,8-terpin. Or, pendant la maturation du vin, des terpènes peuvent être formés à partir du linalool. D'après Rapp et Mandery, (1986), le linalool, dans un milieu aqueux et acide, est transformé en α -terpineol par cyclisation, en hydroxy-linalool par hydratation et en geraniol et nerol par une transition nucléophile 1,3 (allyl) (**Figure II.23**).

II.3 Conclusions de la synthèse bibliographique et objectifs de l'étude

La conduite de la distillation charentaise est un procédé bien décrit et définie par le décret du 7 janvier 2015. La description du mode opératoire a permis de définir le vocabulaire lié à la distillation charentaise traditionnelle (noms des fractions, teneur en éthanol) qui est essentiel pour la description des travaux effectués dans l'étude qui est présentée dans ce manuscrit.

La double chauffe à feu nu est soupçonnée de promouvoir des réactions chimiques au sein du vin dans la chaudière au cours de la distillation charentaise. De nombreuses études ont porté sur la composition en composés volatils présents dans les vins et les cognacs, en particulier vieillis. Les voies de formation de ces composés au cours de la fermentation ont été étudiées de manière détaillée dans la littérature scientifique. En revanche, il existe peu de travaux sur la réactivité chimique lors de la distillation, que ce soit pour les eaux-de-vie de cognac ou autres spiritueux. Cependant, des études portant sur la maturation du vin, voire portant sur d'autres matrices alimentaires mais pouvant se rapprocher des conditions de distillation ont permis de suggérer l'implication de certaines réactions pendant la distillation charentaise.

L'objectif général de cette étude a consisté à identifier les composés volatils étant nouvellement générés ou dont la quantité a augmenté au cours de la distillation charentaise traditionnelle. Il s'est agi également d'identifier et caractériser les réactions chimiques à l'origine de leur formation.

Pour répondre à cet objectif, la démarche adoptée s'est faite en quatre temps :

- Mise au point d'une méthode de concentration des composés volatils d'arôme, destinée principalement à l'analyse des vins, en évitant la formation de composés néoformés par chauffage.
- Bilan complet d'une distillation charentaise à l'échelle industrielle et identification des composés générés au cours du procédé complet de double chauffe.
- Comparaison de deux modes de distillation sur la base des compositions en composés générés : en alambic pilote avec une comparaison de la chauffe à feu nu avec une chauffe à la vapeur.
- Caractérisation d'une des réactions majeures dans la génération de composés à impact olfactif : l'hydrolyse acide de l' α -terpenyl- β -glucopyranoside impliquée dans la formation de l' α -terpineol au cours de la distillation.

III. MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DISTILLATION A PRESSION REDUITE POUR LE DOSAGE DES COMPOSES VOLATILS DANS LES VINS ET ECHANTILLONS A BASSE TENEUR EN ETHANOL

III.1 Contexte et objectifs

Pour effectuer un bilan matière lors de la distillation charentaise, tous les composés volatils contenus à l'état de trace dans les différentes fractions, telles que le vin, la vinasse et dans les différents distillats, doivent pouvoir être dosés.

Pour tous les échantillons à faible teneur en éthanol ($\leq$ teneur en éthanol du vin), la distillation à l'échelle laboratoire est couramment utilisée pour l'extraction et le dosage des composés volatils. Elle permet d'extraire et de concentrer les composés volatils dans le distillat ainsi que de laisser dans le résidu la part de matière sèche contenue dans le vin et la vinasse et ainsi l'éliminer. La composition en composés volatils peut ensuite être analysée directement par chromatographie en phase gazeuse par injection du distillat obtenu.

Au Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC), les composés volatils présents dans le vin sont systématiquement concentrés en effectuant une distillation à pression atmosphérique. Cette méthode requiert un double chauffage pour obtenir un distillat titrant à 70 % v/v. La problématique réside dans le fait qu'un chauffage portant le vin à ébullition (température ≥ 92 °C) entraîne la formation de composés néoformés par réaction dans le liquide à ébullition : composés issus de diverses réactions que nous voulons justement caractériser. Après évaporation et condensation, les composés volatils issus de ces réactions peuvent se retrouver dans le distillat. En conséquence, pour cette étude, il était nécessaire de mettre au point une méthode de distillation pouvant permettre la détection et l'analyse des composés volatils à l'état de traces dans le vin et les échantillons à faible teneur en éthanol, en une seule chauffe (afin de limiter les erreurs expérimentales) et sans induire la formation d'artefacts dus à l'apport d'énergie thermique. L'absence d'artefact thermique lors de la distillation à pression réduite est un point

primordial afin d'identifier sans biais les composés générés lors de la distillation charentaise (chapitre III).

Des travaux effectués par (Babu et al., 2007) sur l'extraction d'huiles essentielles de curcuma par distillation sous vide à l'échelle laboratoire, avec une pression de 200 mbar, ont montré que les distillats obtenus étaient plus riches en terpènes que les distillats obtenus à pression atmosphérique. Les auteurs en ont conclu que la distillation à pression réduite évite la dégradation thermique des terpènes. Par ailleurs, l'équipe de (Maignial et al., 1992) ont travaillé sur le développement d'un appareil permettant l'extraction des composés volatils par distillation-extraction simultanée à pression réduite (50 mbar) par chauffage au bain-marie entre 20 °C et 40 °C. Ils ont montré qu'une distillation-extraction simultanée conduite à pression réduite permet d'extraire les composés volatils tels que le linalol ou l'acétate de linalyle tout en empêchant la formation de composés néoformés par une réaction chimique tel que le furfural.

Au regard de la littérature, nous avons choisi d'explorer la piste de la distillation à pression réduite comme moyen de concentrer les composés volatils. Ce chapitre présente la mise au point de la méthode de distillation à pression réduite à l'échelle laboratoire et la détermination des coefficients de correspondance permettant, à partir de l'analyse du distillat obtenu, d'évaluer les concentrations initiales dans l'échantillon.

III.2 Matériels et méthodes

III.2.1 Distillation sous pression réduite utilisant l'évaporateur rotatif

La distillation à pression réduite (DPR) s'effectue à l'aide d'un évaporateur rotatif Büchi (**Figure III.1**). Il s'agit de distiller à pression réduite afin de diminuer la température d'ébullition du vin. La teneur en éthanol de tous les échantillons à distiller est ajustée à environ exactement 9.5 % v/v correspondant à la teneur alcoométrique volumique (T.A.V.) du vin. Une masse d'environ exactement 720 g d'échantillon est introduite dans un ballon de 1 L. La température du bain-marie est fixée à 40 °C. La pression au sein de l'évaporateur rotatif est fixée à 60 mbar. La température du réfrigérant est de -8 °C. A l'issue de la distillation, 120 mL de distillat titrant à environ 40 % v/v sont obtenus dans le ballon de récupération. Le distillat est ensuite analysé par chromatographie gazeuse. Les concentrations en éthanol de la solution initiale, du distillat et de la solution résiduelle ont été mesurées par mesure de la densité à l'aide d'un densimètre DMA 35 Anton Paar ($\pm 0.001 \text{ g/cm}^3$).

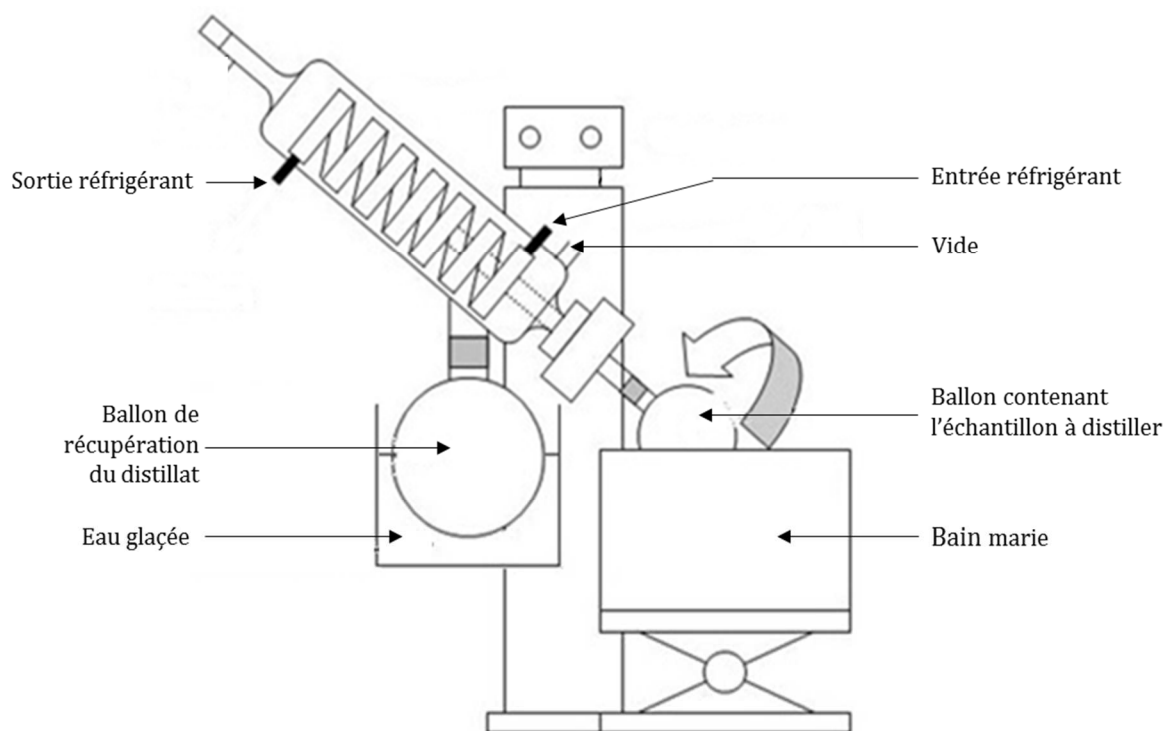


Figure III.1 : Dispositif utilisant un évaporateur rotatif pour effectuer la distillation à pression réduite

III.2.2 Méthodes d'analyses par chromatographie en phase gazeuse

III.2.2.1 Produits chimiques

Les composés volatils d'intérêt sont quantifiés à l'aide d'une table de calibration établie à partir de composés de référence. Méthanol, propanol, isobutanol, 1-butanol, 2-méthylbutanol, 3-méthylbutanol, 1-hexanol, phenyl-2-ethanol, *cis*-3-hexen-1-ol, ethyl formate, isoamyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl lactate, ethyl octanoate, ethyl decanoate, isobutanol, furfural, butanal, 2-méthylbutanal, pentanal, octanal, *trans*-2-nonenal, decanal, 1-octen-3-one, linalol, α -terpineol, β -citronellol, 1,1,6-triméthyl-1,2-dihydronaphtalène, β -damascenone, 4-méthylpentan-2-ol, ethyl undecanoate, 3,4-diméthylphenol, heptan-4-one, 2,2-diméthylpropanal, O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) ont été achetés chez Sigma-Aldrich-Fluka (St. Quentin Fallavier, France) avec une pureté pour tous ces composés $\geq 97\%$; 1,1,6-triméthyl-1,2-dihydronaphtalène (TDN) fut obtenu chez Interchim, pureté de 80 % (Montluçon, France). L'éthanol absolu, le pentane et le dichlorométhane ont été acquis chez VWR International. Le chlorure de sodium fut obtenu chez ACROS Organics (Noisy-Le-Grand, France).

III.2.2.2 Analyse par GC-FID en injection directe

La méthode d'injection directe est utilisée pour l'analyse des composés volatils majoritaires retrouvés dans le distillat tels que les alcools et les esters (Ferrari et al., 2004). La méthode est la suivante : tous les échantillons sont ajustés à un T.A.V. de 40 % v/v. Un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 6890 Agilent, équipé d'un injecteur split/splitless (220 °C) et d'un détecteur à ionisation de flamme (220 °C ; H₂, 30 mL/min; air, 320 mL/min; N₂ à 25 mL.min⁻¹) est utilisé. Le gaz vecteur est de l'hydrogène avec un débit de 1,4 mL/min. Une colonne CP-Wax 57 CB en silice fondue WCOT (50 m × 0.25 mm, 0.25 µm de Chrompack). L'injection est réalisée en mode split avec un ratio de 1/14. 100 µL de standard interne, le 4-méthylpentan-2-ol à une concentration de 28 g/L dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés dans 10 mL d'échantillon. Le volume d'échantillon injecté est de 0,2 µL grâce à un passeur automatique. Le programme du four est le suivant : 5 min à 35°C, augmentation de 4 °C/min jusqu'à 220 °C puis maintien pendant 10 min à 220 °C. L'identification des composés s'est effectuée en comparant leurs indices de rétention avec ceux des composés de référence. Les droites d'étalonnage sont établies à partir d'une solution mère contenant le standard interne et des concentrations connues de standards analytiques et diluée à différentes concentrations.

III.2.2.3 Extraction par pentane/dichloromethane pour l'analyse en GC-MS

25 mL de distillat ajusté à 40 %v/v d'éthanol et 2.5 g de NaCl sont ajoutés dans un tube en verre. 50 µL de solution comportant deux étalons internes (ethyl undecanoate: 500 mg/L; 3,4-dimethylphenol: 300 mg/L dans de l'éthanol absolu) sont ajoutés aux 25 mL d'échantillon. Pour l'extraction, 4 mL d'un mélange de pentane/dichloromethane (80/20 v/v) sont mis en contact avec l'échantillon puis l'ensemble est homogénéisé par vortex pendant 3 min. La phase organique (phase supérieure) est récupérée après décantation et est concentrée par évaporation en réduisant le volume à 0,3 mL à l'aide d'une colonne Kuderna-Danish sous flux d'azote. L'extrait est analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS). Pour l'analyse GC, une colonne DB-Wax en silice fondue WCOT (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm J&W Scientific) est utilisée. 1 µL d'échantillon est injecté en mode splitless avec le programme de four suivant: 0.7 min à 35 °C, puis montée en température de 20 °C/min jusqu'à 60 °C, puis de 4 °C/min pour atteindre 200 °C, puis 9° C/min jusqu'à 243 °C pendant 45 min. Le détecteur est utilisé en mode scan (m/z 30-300 uma; 5 scans/sec) et en mode Single Ion Monitoring (SIM) avec une ionisation par impact électronique à 70 eV. La température de la source est fixée à 230 °C. L'identification est effectuée en comparant l'indice de rétention et le spectre de masse avec ceux des composés de référence si ceux-ci sont disponibles. Dans le cas contraire, ils sont comparés aux spectres de la base de données NIST. La quantification et la semi-quantification sont effectuées en

modes fullscan et SIM. L'utilisation de l'équation de la droite de régression linéaire a permis leur quantification.

III.2.2.4 Dérivation par PFBHA pour l'analyse des composés carbonylés par GC-MS (Snakkers et al., 2015)

La méthode de dosage des composés carbonylés volatils consiste à prélever 10 mL d'échantillon ajusté à 40 % v/v d'éthanol et 50 μ L d'étalons internes (4-heptanone à 26.3 mg/L pour les cétones; 2,2-dimethylpropanal à 26.7 mg/L pour les aldéhydes, les deux étant dans de l'éthanol absolu) et placés dans un tube en verre. Puis, 1 mL de O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) d'une concentration de 18 g/L dans de l'eau ultra pure est ajouté dans la solution. La solution est brièvement agitée puis laissée pendant 1 heure, à l'abri de la lumière afin que les composés carbonylés réagissent avec le PFBHA pour former un oxime. 2 mL de pentane sont ajoutés et le tube est agité par vortex pendant 2 min. La phase organique est récupérée et réduite à 0.2 mL sous flux d'azote en utilisant une colonne Kuderna-Danish. L'extrait est ensuite analysé par GC-MS. Une colonne capillaire Agilent DB5 MS (60 m x 0.25 mm x 1 μ m) est utilisée. Une injection en mode splitless de 2 μ L d'échantillon est effectuée. Le programme de températures du four est le suivant : 35°C pendant 0.8 min, augmentation de 10°C/min jusqu'à 170°C puis 3°C/min jusqu'à 300°C maintenu pendant 10 min. Les données chromatographiques sont obtenues par le logiciel Chemstation (Agilent). L'identification s'est effectuée en comparant le temps de rétention et le spectre de masse de chaque composé avec celui de référence. Une régression linéaire a permis leur quantification.

III.3 Résultats et discussion

III.3.1 Bilan matière effectué sur l'éthanol lors de la distillation à pression réduite

Pour effectuer un bilan matière sur l'éthanol, une eau-de-vie de cognac à 70,0 %v/v est diluée à 9,5 %v/v à l'aide d'eau distillée pour correspondre au T.A.V. d'un vin. On effectue la distillation à pression réduite comme décrit en plus haut. Le T.A.V. de la solution initiale, du distillat et de la solution résiduelle sont mesurés. Le Titre Alcoométrique Massique (T.A.M.) est exprimé en %wt. La multiplication du T.A.M. par la masse de la fraction correspondante permet d'obtenir la quantité en gramme d'éthanol.

Les mesures des concentrations en éthanol de la solution initiale avant la DPR et du distillat et de la solution résiduelle après la DPR, ont permis d'établir un bilan matière sur l'éthanol au cours du procédé. Après la préparation de la solution hydro-alcoolique, une mesure expérimentale du

T.A.V. par densimétrie a indiqué un titre en éthanol de 9.6 %v/v. La masse de solution de départ fut de 719.4 g, correspondant à 740 mL. Pour rappel, ce volume a été choisi car il est comparable à celui utilisé lors des distillations décrites précédemment (III.2.1).

Tableau III.1 : masses, masses volumiques et teneurs en éthanol retrouvées dans les différentes fractions permettant d'effectuer un bilan matière sur l'éthanol

	Mesure de densité des solutions						Masse EtOH (g)
	Volume (L)	Masse (g)			T.A.M (% wt)	T.A.V. (% v/v)	
			Masse volumique (kg.m ⁻³)	Température lors de la mesure (°C)			
Solution initiale	0.731	719,4	986,1	15	7,7	9.6	55.4
Distillat	0.112	105,6	951,8	14	33,0	39.7	34.8
Solution résiduelle	0.616	610,0	988,9	31	3,5	4,4	21,4

Le **Tableau III.1** montre que pour une pression fixée à 60 mbar et une température de 40 °C on obtient un distillat titrant à environ 40 % v/v. La masse totale d'éthanol retrouvée après distillation (dans le distillat et la solution résiduelle) sur la masse d'éthanol dans la solution avant distillation indique un ratio de 1.01. Cela suggère qu'il n'y pas de perte en éthanol. D'autre part, 62.8% de l'éthanol de départ est récupéré dans le distillat final.

III.3.2 Bilan matière effectué sur les composés volatils

Pour effectuer un bilan matière sur les composés volatils, la même eau-de-vie de cognac diluée ainsi que le distillat et la solution résiduelle résultant de la distillation à pression réduite sont analysés par les méthodes de quantification des composés volatils présentées précédemment : GC-FID en injection directe (III.2.2.2), GC-MS d'un extrait au pentane/dichlorométhane (III.2.2.3) et dérivation par PFBHA (III.2.2.4) pour l'analyse des composés carbonylés. La concentration de chaque composé (exprimée en mg/L) est multipliée par le volume de la fraction correspondante afin d'obtenir sa masse en mg. Un facteur de dilution est appliqué aux concentrations des composés volatils contenus dans l'eau-de-vie de cognac comme indiqué dans l'équation 1:

$$[CV]_{EDVd} = [CV]_{EDVi} \times \frac{TAV_{EDVd}}{TAV_{EDVi}} \quad [1]$$

où $[CV]_{EDVd}$ représente la concentration en composé volatil dans l'eau-de-vie diluée, $[CV]_{EDVi}$ représente la concentration dans l'eau-de-vie initiale, TAV_{EDVd} et TAV_{EDVi} représente le T.A.V. de l'eau-de-vie diluée et initiale, respectivement.

Le **Tableau III.2** présente la masse de chaque composé retrouvée dans la solution avant distillation, dans le distillat et la solution résiduelle. Le tableau indique également le ratio de la quantité de composé volatil dosée après distillation (distillat + résidu) sur la quantité de composé volatil dosé dans l'eau-de-vie diluée

La majorité des composés volatils suivis ont un ratio proche de 1.0 ce qui indique que leurs masses n'évoluent pas. Ainsi, les quantités des marqueurs de chauffe tels que le furfural ou l'isobutanol restent stables (ratio de 0.93 et 0.96 respectivement) tout au long de la DPR, ce qui suggère que la DPR n'induit pas d'artefact thermique comme indiqué par (Maignial et al., 1992).

Pour les alcools, seul le 1-hexanol, avec un ratio de 0.82, voit sa quantité diminuer au cours du procédé.

L' α -terpineol possède un ratio de 0.55. Cependant, ce dernier a été détecté dans la solution résiduelle à une teneur en dessous de la limite de quantification. En se plaçant à la limite de détection à 0.01 mg/L, le ratio est estimé à 0.98. Comme l'a montré (Babu et al., 2007), les terpènes ne semblent pas se dégrader au cours de la distillation à pression réduite alors que les auteurs ont observé une dégradation des terpènes lors d'une distillation à pression atmosphérique.

Le TMPBE a un ratio de 1.4 ce qui indique que le composé distille peu dans le distillat. Aussi, en raison des très faibles concentrations, il se peut que cette augmentation soit due à l'incertitude de la mesure. Certains composés, dû à leur faible volatilité relative, distillent peu et se retrouvent essentiellement dans la solution résiduelle. C'est le cas de du 2-phenylethanol, de l'ethyl, lactate et de l'actinidol 1 et 2. La distillation à pression réduite ne permet pas de concentrer ces composés dans le distillat.

Tableau III.2: Bilan matière effectué sur les composés volatils distillés à pression réduite. ^a1,1,6-triméthyl-1,2-dihydronaphtalène. ^b1-(2,3,6-triméthylphényl)buta-1,3-diène. ^c4-(2,3,6-triméthylphényl)-butan-2-one. ^d4-(2,3,6-triméthylphényl)-3-buten-2-one

Composé	Masse du composé volatil (mg)			$\frac{masse(distillat + résidu)}{masse(EDV diluée)}$	LOQ (mg/L)	
	Estimée dans EDV diluée	EDV	Distillat			Solution résiduelle
ALCOOLS						
Methanol	22.91		12.78	9.00	0.95	0.5
Propanol	28.93		19.41	8.44	0.96	0.5
Isobutanol	70.61		56.73	8.62	0.93	0.5
2-méthylbutan-1-ol	47.32		38.57	5.09	0.92	0.5
3-méthylbutan-1-ol	184.46		146.66	23.64	0.92	0.5
1-hexanol	1.12		0.91	N.D.	0.82	0.5
2-phenylethanol	0.81		0.072	0.72	0.98	0.5
ESTERS						
Ethyl formate	0.22		0.17	N.D.	0.79	1.0
Ethyl butyrate	0.14		0.13	N.D.	0.97	0.5
Isoamyl acetate	0.63		0.58	N.D.	0.91	0.5
Ethyl acetate	28.40		26.54	N.D.	0.93	0.5
Ethyl hexanoate	0.35		0.32	N.D.	0.91	0.5
Ethyl lactate	19.33		2.95	15.68	0.96	1.0
Ethyl octanoate	0.66		0.56	N.D.	0.85	0.5
Ethyl decanoate	0.46		0.36	N.D.	0.78	0.5
Ethyl laurate	0.24		0.17	N.D.	0.69	0.5
ALDEHYDES						
2-méthylbutanal	0.19		0.13	N.D.	0.68	0.2
3-méthylbutanal	0.080		0.056	N.D.	0.70	0.2
Isobutanal	1.15		1.10	N.D.	0.96	0.5
Furfural	0.66		0.34	0.27	0.93	0.5
TERPENES						
α -terpineol	0.015		0.008	<LOQ	≥ 0.55	0.033
Hotrienol	0.020		0.014	0.0034	0.88	0.0005
Myrcenol	0.0062		0.004	0.0019	0.94	0.0033
NORISOPRENOIDS						
Actinidol 1	0.0062		<LOQ	0.0062	≥ 1.00	0.013
Actinidol 2	0.0077		<LOQ	0.0068	≥ 0.88	0.013
Actinidol 3	0.0044		0.0038	N.D.	0.87	0.013
Actinidol 4	0.0033		0.0029	N.D.	0.89	0.013
TDN ^a	0.030		0.024	N.D.	0.82	0.013
β -damascenone	0.018		0.016	<LOQ	≥ 0.90	0.0067
Riesling acetal	0.0067		0.0047	N.D.	0.70	0.0067
Vitispirane 1	0.011		0.011	N.D.	0.95	0.013
Vitispirane 2	0.011		0.0091	N.D.	0.85	0.013
TPB ^b	0.0036		0.0028	N.D.	0.77	0.0033
TMPBA ^c	0.0021		0.00061	0.0015	1.01	0.0017
TMPBE ^d	0.0059		0.0025	0.0057	1.39	0.0017

III.3.3 Détermination des facteurs de correspondance entre le distillat et la solution initiale

A partir du dosage des composés volatils effectué dans l'eau-de-vie de cognac, le distillat et la solution résiduelle (**Tableau III.2**), les facteurs de correspondance de chaque composé volatil ont pu être déterminés.

Pour chaque composé volatil, les concentrations mesurées dans le distillat après distillation à pression réduite sont mises en relation avec les concentrations de la solution pré-distillation afin de déterminer le coefficient de concentration solution pré-distillation/distillat qui servira à remonter des teneurs dans le distillat aux teneurs initiales (équation 2).

$$\text{Facteur correspondance} = \frac{[\text{Concentration composé}]_{\text{Pré-distillation}}}{[\text{Concentration composé}]_{\text{Distillat}}} \quad [2]$$

Les résultats présentés dans le **Tableau III.3** montrent les concentrations de composés volatils dosés dans l'eau-de-vie nouvelle et l'eau de vie nouvelle distillée à pression réduite après dilution. Ces facteurs peuvent être comparés avec celui de l'éthanol qui est directement calculé d'après les T.A.V de l'eau-de-vie à 9,5 %v/v et celui du distillat à 40 %v/v. Un facteur de 0,24 est évalué pour l'éthanol ce qui signifie que ce dernier est concentré environ 4 fois à l'issue de la distillation à pression réduite. En le comparant aux facteurs des autres composés volatils, il est possible d'évaluer le comportement des composés volatils par rapport à l'éthanol.

Ainsi, un coefficient inférieur à 0,24 indique que le composé volatil est plus concentré que l'éthanol et de ce fait, distille mieux. En revanche, un composé ayant un coefficient de concentration compris entre 0.24 et 1 signifie que celui-ci se concentre moins que l'éthanol lors de la distillation à pression réduite. Au-dessus de 1, le composé est dilué, c'est-à-dire que seulement une fraction passe dans le distillat mais que la majorité du composé ne distille pas.

III.4 Conclusion sur la distillation à pression réduite

La mise au point d'une distillation à pression réduite a permis l'obtention d'un distillat en une seule chauffe et titrant environ 40 %v/v. Ainsi, il nous a été possible de concentrer les composés volatils présents dans la solution initiale tout en se plaçant dans des conditions opératoires qui empêchent la formation d'artefacts thermiques et la dégradation de terpènes. Par ailleurs, un bilan matière sur l'éthanol a montré qu'il ne semblait pas y avoir de pertes au cours de la distillation à pression réduite. Le bilan matière sur les composés volatils a montré qu'il y avait peu de pertes pour la majorité des composés volatils. Cependant, il a été montré que cette méthode ne permet pas de concentrer les composés ayant une faible volatilité relative. Enfin, la détermination

des facteurs de correspondance entre la solution initiale et le distillat permettra d'évaluer les teneurs réelles des composés volatils présents dans le vin, la vinasse, le résidu de brouillis et les queues.

La mise au point de cette méthode sera appliquée sur les échantillons dans lesquels les composés volatils sont à l'état de trace, c'est à dire le vin, la vinasse, les queues et le résidu de brouillis pour les concentrer. Cela permettra d'effectuer les bilans matière complets d'une distillation charentaise et des distillations en alambic pilote.

Tableau III.3 : Facteurs de correspondance déterminés à partir d'une eau-de-vie nouvelle de cognac diluée à 9.5 %v/v puis distillée. Le tableau regroupe les facteurs de correspondance des composés volatils de différentes familles chimiques. Résultats exprimés en moyenne $\pm$ écart type

	Concentration EDV (mg/L) T.A.V. = 70.0 %v/v	Concentration EDV dilué; solution initiale (mg/L) T.A.V. = 9,6 %v/v	Concentration distillat (mg/L) T.A.V. = 39.7 %v/v	Facteur de correspondance
ALCOHOLS				
Methanol	231.51 $\pm$ 3.31	31.34 $\pm$ 0.67	114.60 $\pm$ 1.02	0.27 $\pm$ 0.0058
Propanol	292.37 $\pm$ 4.96	39.58 $\pm$ 1.0057	174.15 $\pm$ 2.24	0.23 $\pm$ 0.0058
Isobutanol	713.49 $\pm$ 11.66	96.59 $\pm$ 2.32	508.83 $\pm$ 5.75	0.19 $\pm$ 0.0046
2-methylbutanol	478.12 $\pm$ 7.95	64.72 $\pm$ 1.58	345.93 $\pm$ 3.80	0.19 $\pm$ 0.0046
3-methylbutanol	1863.89 $\pm$ 31.80	252.32 $\pm$ 6.35	1315.32 $\pm$ 15.06	0.19 $\pm$ 0.0048
1-hexanol	11.87 $\pm$ 1.84	1.61 $\pm$ 0.25	10.09 $\pm$ 1.45	0.16 $\pm$ 0.017
2-phenylethanol	8.16 $\pm$ 0.21	1.11 $\pm$ 0.042	0.65 $\pm$ 0.071	1.70 $\pm$ 0.064
ESTERS				
Ethyl formate	2.19 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.0179	1.55 $\pm$ 0.31	0.19 $\pm$ 0.012
Ethyl butyrate	1.39 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.0046	1.19 $\pm$ 0.075	0.16 $\pm$ 0.0038
Isoamyl acetate	6.41 $\pm$ 0.12	0.87 $\pm$ 0.0229	5.2 $\pm$ 0.21	0.17 $\pm$ 0.0044
Ethyl acetate	287 $\pm$ 6.79	38.85 $\pm$ 1.3084	238.05 $\pm$ 47.52	0.16 $\pm$ 0.0055
Ethyl hexanoate	3.77 $\pm$ 0.20	0.51 $\pm$ 0.0366	2.95 $\pm$ 0.03	0.17 $\pm$ 0.012
Ethyl lactate	195.31 $\pm$ 3.89	26.44 $\pm$ 0.7678	26.47 $\pm$ 2.27	1.00 $\pm$ 0.029
Ethyl octanoate	6.62 $\pm$ 0.10	0.9 $\pm$ 0.0182	5.02 $\pm$ 0.023	0.18 $\pm$ 0.0036
Ethyl decanoate	4.69 $\pm$ 0.090	0.64 $\pm$ 0.017	3.25 $\pm$ 0.073	0.20 $\pm$ 0.0051
Ethyl laurate	2.41 $\pm$ 0.050	0.33 $\pm$ 0.010	1.48 $\pm$ 0.16	0.22 $\pm$ 0.0067
ALDEHYDES				
Isobutanal	11.58 $\pm$ 0.23	1.57 $\pm$ 0.040	9.88 $\pm$ 1.72	0.16 $\pm$ 0.0041
Furfural	6.63 $\pm$ 0.19	0.90 $\pm$ 0.037	3.05 $\pm$ 0.050	0.29 $\pm$ 0.012
2-methylbutanal	1.87 $\pm$ 0.0017	0.25 $\pm$ 0.0024	1.18 $\pm$ 0.015	0.21 $\pm$ 0.0034
3-methylbutanal	0.80 $\pm$ 0.0072	0.11 $\pm$ 0.0013	0.50 $\pm$ 0.0077	0.22 $\pm$ 0.0046
TERPENES				
α -terpineol	0.15 $\pm$ 0.00044	0.020 $\pm$ 0.00006	0.070 $\pm$ 0.00067	0.28 $\pm$ 0.0034
Hotrienol	0.21 $\pm$ 0.0094	0.028 $\pm$ 0.0013	0.13 $\pm$ 0.00324	0.21 $\pm$ 0.0099
Myrcenol	0.063 $\pm$ 0.00013	0.0085 $\pm$ 0.00002	0.040 $\pm$ 0.00036	0.24 $\pm$ 0.0015
NORISOPRENOIDS				
Actinidol 1	0.062 $\pm$ 0.0011	0.0084 $\pm$ 0.00015	<LOQ	-
Actinidol 2	0.078 $\pm$ 0.0018	0.011 $\pm$ 0.00024	<LOQ	-
Actinidol 3	0.044 $\pm$ 0	0.006 $\pm$ 0	0.034 $\pm$ 0.00067	0.17 $\pm$ 0.0022
Actinidol 4	0.033 $\pm$ 0	0.0045 $\pm$ 0	0.026 $\pm$ 0	0.17 $\pm$ 0
TDN	0.30 $\pm$ 0.0020	0.041 $\pm$ 0.00027	0.22 $\pm$ 0.00333	0.18 $\pm$ 0.0017
β -damascenone	0.18 $\pm$ 0.00089	0.024 $\pm$ 0.00012	0.14 $\pm$ 0.00267	0.17 $\pm$ 0.00088
Riesling acetal	0.068 $\pm$ 0.00089	0.0092 $\pm$ 0.00012	0.042 $\pm$ 0.00067	0.22 $\pm$ 0.0040
Vitispirane 1	0.11 $\pm$ 0.0022	0.015 $\pm$ 0.00030	0.094 $\pm$ 0.00089	0.16 $\pm$ 0.0029
Vitispirane 2	0.11 $\pm$ 0.0020	0.015 $\pm$ 0.00027	0.081 $\pm$ 0.00089	0.18 $\pm$ 0.0030
TPB	0.036 $\pm$ 0	0.0049 $\pm$ 0	0.025 $\pm$ 0.00044	0.20 $\pm$ 0.0012
TMPBA	0.021 $\pm$ 0.00038	0.0028 $\pm$ 0.00005	0.0055 $\pm$ 0.00004	0.52 $\pm$ 0.0065
TMPBE	0.060 $\pm$ 0.00084	0.0081 $\pm$ 0.00011	0.023 $\pm$ 0.00016	0.36 $\pm$ 0.0031

IV. EVOLUTION DES COMPOSES VOLATILS AU COURS DE LA DISTILLATION DES EAUX-DE-VIE DE COGNAC

IV.1 Objectif de l'étude

Le but était de déterminer quels composés voyaient leur quantité augmenter au cours de la distillation parmi l'ensemble des volatils présents dans le vin. Pour ce faire, cette étude repose sur l'établissement d'un bilan matière complet sur le procédé de distillation charentaise. Ce bilan matière permet de s'affranchir de l'effet de concentration engendré par la distillation en ne travaillant uniquement qu'à partir de quantité en composés volatils. Ainsi, une campagne de prélèvements à la distillerie de l'Antenne à Javrezac a été effectuée afin d'échantillonner l'ensemble des fractions pour analyse. La détermination des composés volatils formés au cours de la distillation permettra d'évaluer l'étape déterminante de la distillation charentaise quant à la réactivité chimique au cours du procédé. Par ailleurs, au regard de la littérature scientifique, des hypothèses sur les réactions impliquées dans la formation des composés seront émises et discutées.

IV.2 Article: Evolution of volatile compounds during the distillation of cognac spirit

**Pierre Awad^{a,b}, Violaine Athès^a, Martine Esteban Decloux^b, Gérald Ferrari^c,
Guillaume Snakkers^c, Patrick Raguenaud^d and Pierre Giampaoli^b**

^a UMR 782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires (GMPA), AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, F-78330 Thiverval-Grignon, France

^b UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 1 av. des Olympiades, F-91300 Massy, France

^c Station Viticole du BNIC, 69 rue de Bellefonds, F-16100 Cognac, France

^d Fondation Jean Poupelain, 30 rue de Gatechien, F-16100 Javrezac, France

Corresponding author: Pierre Awad

Email: pierre.awad@agroparistech.fr Phone: +33 (0)1 69 93 51 17

Publié dans le Journal of Agricultural and Food Chemistry en Juillet 2017.

IV.2.1 Abstract

Cognac wine spirit has a complex composition in volatile compounds which contribute to its organoleptic profile. This work focused on the batch distillation process and, in particular, on volatile compounds specifically produced by chemical reactions during the distillation of cognac wine spirit, traditionally conducted in two steps with charentais pot stills. The aim of this study was to characterize these volatile compounds formed during distillation. Sampling has been performed on the distillates and inside the boiler during a typical cognac distillation. The analysis of these samples allowed to perform a mass balance and to point out several types of volatile compounds whose quantities strongly increased during the distillation process. These compounds were distinguished by their chemical family. It has been found that the first distillation step was decisive for the formation of volatile compounds. Moreover, 2 esters, 3 aldehydes, 12 norisoprenoids and 3 terpenes were shown to be generated during the process. These results suggest that some volatile compounds found in cognac spirit are formed during distillation due to chemical reactions induced by high temperature. These findings give important indications to professional distillers in order to enhance the product's quality.

Keywords: cognac spirit; pot still batch distillation; volatile compounds; chemical reactivity

IV.2.2 Introduction

Cognac is a prestigious French wine spirit exclusively produced in Charente, Charente Maritime and some neighboring communities (France). The “Charentaise distillation” of cognac spirit is a traditional batch process well described in terms of equipment and operations by the distillers and the Appellation d’Origine Contrôlée (AOC) or “Controlled Designation of Origin” decree (Décret n° 2015-10 du 7 janvier 2015 relatif à l’appellation d’origine contrôlée « Cognac » ou « Eau-de-vie de Cognac » ou « Eau-de-vie des Charentes »). Moreover, cognac spirit has a complex composition in volatile compounds which contribute to the product’s typical aroma perceived by the consumer. These compounds have different origins: they come from grape musts, are formed during alcoholic fermentation, are produced during the distillation process (Zierer et al., 2016) and after, by the ageing process in wooden casks (Guymon and Crowell, 1968; Maarse and Visscher, 1990; Etiévant, 1991; Nykänen and Nykänen, 1991).

The volatile compounds found in distilled beverages have been reported in the literature (Nykänen and Suomalainen, 1983; Nykänen and Nykänen, 1991). The aroma compounds involved in the odor perception are sorted by chemical classes such as alcohols, esters, aldehydes, norisoprenoids and terpenes. Moreover, extensive studies on their formation during grapes’ maturation and musts’ fermentation have been conducted. Alcohols found in cognac spirit are mainly formed during fermentation from amino acids that undergo a deamination and a decarboxylation by yeast’s biosynthesis (Dinsmoor Webb and Ingraham, 1963; Ayräpää, 1971; Nykänen and Suomalainen, 1983). Carboxylic acids are also formed by the biosynthesis of the yeast during the fermentation step (Lynen, 1967) and are found to participate in the overall aroma of freshly distilled cognac spirit (Ferrari et al., 2004). Esters have a great impact on the cognac spirit’s perception and are mainly synthesized by yeast during alcoholic fermentation. Esters can also be derived from the grape, from the chemical esterification of alcohols and from acids during wine ageing (Rapp and Mandery, 1986; Etiévant, 1991; Younis and Stewart, 1998; Lambrechts and Pretorius, 2000; Ledauphin et al., 2004). Aldehydes and ketones can contribute to unpleasant green notes in wine (Hashizume and Samuta, 1997) whisky, (Wanikawa et al., 2002) and cognac (Snakkers et al., 2015).

Terpenes and norisoprenoids such as linalool, nerolidol, β -damascenone and vitispiranes have been shown to be key odorant compounds in freshly distilled cognac spirit (Ferrari et al., 2004). Terpenes and C₁₃-norisoprenoids are already present in vines and grape musts under two forms : free and glycosylated (Sefton et al., 1994; Yuan and Qian, 2016). The quantity of glycosidically bound volatiles is estimated to be two to eight times greater than their free counterparts (Günata

et al., 1985). While glycosylated compounds are not contributing to aroma directly, they are considered as important aroma precursors (Maicas and Mateo, 2005). Glycosylated compounds can be hydrolyzed by acid (Winterhalter and Schreier, 1994; Williams et al., 1995; Maicas and Mateo, 2005) or by enzymes (Günata et al., 1985; Black et al., 2015) during fermentation. Upon hydrolysis, the aglycon is liberated in the wine, and becomes sensorially active. However, compound formation during distillation remains poorly studied and understood, making the distillation process hard to control regarding the specific volatile generated by heating during distillation. Hence, this work focuses on the “Charentaise” distillation process and, in particular, on volatile compounds specifically produced by chemical reactions during heating in a charentais pot still.

The Charentaise batch distillation method to obtain cognac spirit is performed by using a pot still made of copper. The process is conducted in two steps: the first one consists in heating the wine introduced into the boiler in order to obtain two distillate fractions: the brouillis’ head and the “brouillis”. The brouillis is then brought back to the boiler for a second distillation to obtain four distillate fractions: the heads, the heart, the seconds and the tails. The heart fraction corresponds to the new cognac spirit that will further undergo a slow maturation in an oak barrel. Cognac distillers use to recycle the seconds fraction in the brouillis of a subsequent second distillation whereas the heads and tails fractions are added in the wine of a subsequent first distillation. No distillate fractions were recycled in the wine nor in the brouillis for this study. The double distillation takes place under thermal conditions that promote the generation of volatile compounds. The aim of this study was to characterize the volatile compounds, usually found in freshly distilled cognac spirit, formed from the high temperature induced by the distillation process.

IV.2.3 Materials and methods

IV.2.3.1 Chemicals

The volatile compounds of interest were quantified with reference to a calibration table established with pure standard compounds. These compounds have been found to have an impact on freshly cognac spirit’s quality (Ferrari et al., 2004) and are routinely quantified in cognac spirit by the Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC). Methanol, propanol, isobutanol, 1-butanol, 2-methylbutan-1-ol, 3-methylbutan-1-ol, 1-hexanol, phenyl-2-ethanol, *cis*-3-hexen-1-ol, ethyl formate, isoamyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl lactate, ethyl octanoate, ethyl decanoate, ethyl succinate, isobutanal, furfural, butanal, 2-methylbutanal, pentanal, octanal, *trans*-2-nonenal, decanal, 1-octen-3-one, linalool, α -terpineol, β -citronellol, 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene,

β -damascenone, 4-methylpentan-2-ol, ethyl undecanoate, 3,4-dimethylphenol, 4-heptanone, 2,2-dimethylpropanal, O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) were purchased from Sigma-Aldrich-Fluka (St. Quentin Fallavier, France); 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN) was from Interchim (Montluçon, France). Absolute ethanol, pentane, dichloromethane were from VWR International. Sodium chloride was purchased from ACROS Organics (Noisy-Le-Grand, France).

IV.2.3.2 Raw materials and the distillation process

An Ugni blanc wine without lees, and having an alcohol strength of 9.5 % v/v and pH 3.3, was used to perform the distillations. A traditional copper pot still was made available by a professional distillery: Distillerie de l'Antenne, S.A.S., 30 rue Gatechien, 16100, Javrezac, France. The elaboration of cognac spirit requires two distillations at atmospheric pressure.

The first step (first heating) consisted in heating 2550 L of wine placed into the boiler at atmospheric pressure with a boiling temperature range from 93 to 100 °C. This step produced the brouillis' head corresponding to the first liters of distillate and the brouillis. This process lasted 11 h. In order to conduct the second heating, 3 wine distillations were necessary to properly load the boiler. From these 3 distillations, 2500 L (corresponding to the boiler's capacity) of brouillis were introduced in the boiler to perform the second distillation. The boiling temperature range inside the boiler was comprised between 82 to 100 °C. During the process, the heads were collected and kept apart. Then came the heart corresponding to the cognac spirit to be aged in oak barrels. Finally, seconds and tails were the two last distillate fractions. This distillation lasted 12 h. **Table IV.1** shows in detail the different fractions, their volume and alcohol content before and after both distillations.

Table IV.1 : Volumes and alcohol content of distillate fractions and the residual solution in the boiler for the first and second distillation as well as mass balance on ethanol (EtOH) for both distillations

1 st distillation						
	Load in boiler	After process				
	Wine	Brouillis head	Brouillis	Stillage		
Volume (L)	2550	4.50	834.00	1711.50		
Alcohol.By.Volume. (%v/v)	9.50	70.33	28.82	< 0.20		
Volume of EtOH (L)	242.25	3.17	240.36	0.00		
Mass balance ratio on EtOH	1.01					
2 nd distillation						
	Load in boiler	After process				
	Brouillis	Heads	Heart	Seconds	Tails	Brouillis residual
Volume (L)	2500	10.00	737.40	513.60	94.75	1144.25
Alcohol By Volume (%v/v)	28.82	82.41	70.00	34.94	5.50	0.00
Volume of EtOH (L)	720.50	8.24	516.2	179.45	5.21	0.00
Mass balance ratio on EtOH	0.98					

IV.2.3.3 Monitoring and sampling during the distillation of cognac spirit.

An Endress Hauser LPG mass Coriolis flowmeter (max measured error on volume flow: 0.3 %) was installed at the distillate output of the pot still. This flowmeter allowed a continuous monitoring of the distillate mass flow, temperature and ethanol concentration. These data were recorded every 10 seconds. Before the first distillation, the wine was sampled three times inside the boiler by using the sampling pipe. During the first distillation, heads of brouillis and brouillis were poured in separate tanks. Heads of brouillis, brouillis and stillage fractions were sampled three times for analysis. For the second distillation, the same protocol was followed: before distillation the brouillis in the boiler was sampled three times for analysis and during distillation the fractions (heads, heart, seconds and tails) were poured in separate tanks. Three samples of each distillate fraction and brouillis residual were taken for analysis. For every change of tanks, the volume recorded by the flowmeter was reset which allowed to measure the volume of each fraction indicated in **Table IV.1**. The residual volumes contained in the boiler (stillage and brouillis residual) were obtained by subtraction of the distillate fractions.

IV.2.3.4 Sample preparation and quantitative analysis by gas chromatography

Volatile compounds such as norisoprenoids and terpenes were present below the limit of quantitation in wine and samples having a low alcohol content wine residual (stillage), brouillis residual and tails). Therefore, an additional step using laboratory scale distillations was required

to concentrate volatile compounds only in these samples. A distillation of wine at atmospheric pressure would lead to a boiling temperature close to 100 °C and would promote the generation of thermal artefacts (Maignial et al., 1992).

In order to prevent these artefacts from occurring, laboratory scale distillations were conducted under low pressure conditions (Maignial et al., 1992). Moreover, for the stillage, brouillis residual and tails, absolute ethanol was added to reach 9.5 % v/v. (corresponding to the wine's alcohol content). Wine, stillage, brouillis residual and tails samples were then distilled in order to concentrate the volatile compounds using a rotary evaporator. 740 mL of sample were added in a 1 L flask. The temperature of the water-bath was set at 40°C and the pressure was set at 60 mbar. Laboratory scale-distillation was performed until 100 mL of distillate, having a 40 % v/v alcohol content, were obtained. The distillate was then analyzed according to the method used. A solution containing known amounts of volatile compounds of interest were distilled under the same conditions in order to assess the extraction yield of each molecule. These yields were taken into account for the quantitation of volatile compounds in wine, wine residual, brouillis residual and tails samples.

For the analysis of volatile compounds gathered in **Table IV.2**, three different preparations were performed on all samples: direct injection for major volatile compound, pentane/dichloromethane extraction for volatile compounds in low concentrations and O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) derivatization for carbonyl volatile compounds.

IV.2.3.4.1 Direct injection for analysis by GC-FID

The direct injection method (Bertrand, 1994) was used for the analysis of major volatile compounds such as alcohol and esters (Ferrari et al., 2004). The direct injection method was the following: all samples were adjusted to 40 % v/v of ethanol. A Hewlett-Packard 6890 gas chromatograph from Agilent, equipped with a split/splitless injector (220 °C with auto-sampler) and a flame ionization detector (220 °C; H₂, 30 mL/min; air, 320 mL/min; makeup gas, N₂ at 25 mL/min) was used. The carrier gas was hydrogen with a flow rate of 1.4 mL/min. A CP-Wax 57 CB fused silica WCOT column (50 m × 0.25 mm, 0.25 µm from Chrompack) was used with a split ratio of 1/14. 100 µL of the internal standard 4-methylpentan-2-ol at a concentration of 28 g/L in absolute ethanol were added to 10 mL of sample. Each sample was prepared in triplicate independently and analyzed. The sample volume injected was 0.2 µL and the oven temperature program was the following: 5 min at 35°C, raised at 4 °C/min to 220 °C and then held for 10 min

at 220 °C. The identification of compounds was performed by comparing their retention times to those of pure standards. Additional identification was achieved by comparing linear retention indices with the literature. Calibration curves were established with a stock solution prepared with commercially available analytical standards at known concentrations and diluted at different concentrations. Information about the stock solution composition and calibration curve is given in **Table IV.2**. Quality verifications were performed periodically to ensure quality control accredited by COFRAC (with reference to ISO 17025 standard), the French laboratories accreditation committee.

Table IV.2 : Calibration table. ¹Direct injection (FID detection). ²Pentane/dichloromethane extraction. ³PFBHA derivatization. ^aRetention index determined on DB-Wax column. ^bRetention index determined on DB-5 column. ^cLimit of quantitation. Std = standard. SQ = Semi-quantified

Compound	Identification	RI	Ion selected (m/z) for SIM quantitation	Quantitation	LOQ ^c (mg/L)	Relative slope	Intercept	R ²	Linearity range (mg/L)	Stock concentration (mg/L)
ALCOHOLS										
Methanol ¹	Ref compound	901 ^a	-	Std	5.00E-1	1.67E-3	9.34E-03	1.0000	1.00 - 200	2000
Propanol ¹	Ref compound	1041 ^a	-	Std	5.00E-1	2.97E-3	-1.54E-02	1.0000	1.00 - 150	1500
Isobutanol ¹	Ref compound	1104 ^a	-	Std	5.00E-1	3.46E-3	-1.71E-02	1.0000	0.50 - 350	3500
1-butanol ¹	Ref compound	1152 ^a	-	Std	5.00E-1	3.20E-3	5.60E-05	1.0000	0.50 - 60	1200
2-methylbutan-1-ol ¹	Ref compound	1209 ^a	-	Std	5.00E-1	3.80E-3	-7.76E-02	0.9950	0.50 - 350	3500
3-methylbutan-1-ol ¹	Ref compound	1211 ^a	-	Std	5.00E-1	3.60E-3	-1.00E-04	0.9980	0.50 - 950	9500
1-hexanol ¹	Ref compound	1356 ^a	-	Std	5.00E-1	3.70E-3	-6.00E-06	0.9970	0.50 - 100	2000
Phenyl-2-ethanol ¹	Ref compound	1921 ^a	-	Std	5.00E-1	4.38E-3	4.00E-03	1.0000	0.50 - 100	2000
<i>Trans</i> -3-hexen-1-ol ²	Ref compound	1355 ^a	67	SQ with <i>cis</i> -3- hexen-1-ol	6.00E-2					
<i>Cis</i> -3-hexen-1-ol ²	Ref compound	1375 ^a	67	Std	6.00E-2	1.88E-1	7.21E-03	0.9995	6.0E-2 - 2.5	720
ESTERS										
Ethyl formate ¹	Ref compound	811 ^a	-	Std	1.00	1.39E-3	2.00E-05	0.9998	1 - 75	1500
Isoamyl acetate ¹	Ref compound	1112 ^a	-	Std	5.00E-1	2.79E-3	6.00E-06	0.9999	0.50 - 50	1000
Ethyl hexanoate ¹	Ref compound	1224 ^a	-	Std	5.00E-1	2.99E-3	1.60E-05	0.9999	0.50 - 60	1200
Ethyl lactate ¹	Ref compound	1336 ^a	-	Std	1.00	1.74E-3	2.30E-05	1.0000	1.00 - 150	1500
Ethyl octanoate ¹	Ref compound	1427 ^a	-	Std	5.00E-1	3.36E-3	5.50E-05	1.0000	0.50 - 75	1500
Ethyl decanoate ¹	Ref compound	1635 ^a	-	Std	5.00E-1	3.51E-3	3.40E-05	0.9999	0.50 - 150	3000
Ethyl succinate ¹	Ref compound	1671 ^a	-	Std	5.00E-1	1.93E-3	7.00E-06	0.9994	0.50 - 70	1400
CARBONYL										
Isobutanal ¹	Ref compound	804 ^a	-	Std	5.00E-1	2.98E-3	-2.31E-03	0.9998	0.50 - 250	1000
Furfural ¹	Ref compound	1449 ^a	-	Std	5.00E-1	2.27E-3	3.70E-05	0.9999	0.50 - 60	1200
Butanal ³	Ref compound	1256 ^b	239 + 250	Std	3.30E-3	8.90E-1	0.00	1.0000	0.00 - 5.6E-2	7.49
2-methylbutanal ³	Ref compound	1294 ^b	281 + 266 + 253	Std	2.00E-1	1.73E-2	0.00	1.0000	0.00 - 29.3	390.9
Pentanal ³	Ref compound	1349 ^b	239 + 222	Std	6.70E-3	1.94	0.00	1.0000	0.00 - 0.047	6.2
1-Octen-3-one ³	Ref compound	1531 ^b	321 + 140	Std	4.00E-3	1.17	0.00	1.0000	0.00 - 5.9E-3	0.79
Octanal ³	Ref compound	1634 ^b	239 + 222	Std	1.00E-3	1.66	0.00	1.0000	0.00 - 1.6E-2	2.16
<i>Trans</i> -2-nonenal ³	Ref compound	1793 ^b	335 + 250	Std	1.00E-3	6.60E-1	0.00	1.0000	0.00 - 1.6E-2	2.12

Compound	Identification	RI ^a	Ion selected (m/z) for SIM quantitation	Quantitation	LOQ ^b (mg/L)	Relative slope	Intercept	R ²	Linearity range (mg/L)	Stock concentration (mg/L)
Decanal ³ TERPENES	Ref compound	1831 ^b	239 + 170	Std	6.70E-4	1.27	0.00	1.0000	0.00 - 2.7E-2	3.59
Linalool ²	Ref compound	1534 ^a	71	Std	1.70E-2	6.10E-1	1.84E-4	1.0000	4.1E-02 - 3.1E-1	100
Hotrienol ²	Tentatively identified	1595 ^a	71 + 82	SQ with β-citronellol	5.00E-4					
Myrcenol ²	Tentatively identified	1596 ^a	59	SQ with β-citronellol	3.30E-3					
α-terpineol ²	Ref compound	1688 ^a	59	Std	3.30E-2	6.09E-1	0.00	1.0000	4.1E-2 - 3.1E-1	100
Terpinene-4-ol ²	Tentatively identified	1597 ^a	154 + 111	SQ with β-citronellol	1.70E-3					
β-citronellol ² NORISOPRENOIDS	Ref compound	1752 ^a	95 + 109	Std	3.30E-2	2.55E-1	2.57E-4	0.9992	2.0E-2 - 1.6E-1	50
Vitispiranes 1 ²	Tentatively identified	1531 ^a	192	SQ with β-damascenone	1.30E-2					
Vitispiranes 2 ²	Tentatively identified	1534 ^a	192	SQ with β-damascenone	1.30E-2					
β-cyclocitral ²	Tentatively identified	1628 ^a	152 + 137	SQ with β-citronellol	6.70E-3					
Riesling acetal ²	Tentatively identified	1636 ^a	148	SQ with β-damascenone	6.70E-3					
Actinidol 3 ²	Tentatively identified	1698 ^a	163	SQ with linalool	1.30E-2					
Actinidol 4 ²	Tentatively identified	1728 ^a	163	SQ with linalool	1.30E-2					
1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN) ²	Ref compound	1743 ^a	142	Std	1.30E-2	1.39	5.80E-3	0.9994	5.0E-2 - 6.7E-1	200
β-damascenone ²	Ref compound	1818 ^a	121	Std	6.70E-3	1.24	2.95E-4	1.0000	2.0E-2 - 4.2E-1	130
(Trans)-1-(2,3,6)-trimethylphenyl)-buta-1,3-diene (TPB) ²	Tentatively identified	1819 ^a	157	SQ with TDN	3.30E-3					
Actinidol 1 ²	Tentatively identified	1926 ^a	163	SQ with linalool	1.30E-2					
Actinidol 2 ²	Tentatively identified	1939 ^a	163	SQ with linalool	1.30E-2					
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one (TMPBA) ²	Tentatively identified	2222 ^a	132	SQ with β-citronellol	1.70E-3					
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (TMPBE) ²	Tentatively identified	2289 ^a	173	SQ with β-citronellol	1.70E-3					

IV.2.3.4.2 Pentane/dichloromethane extraction for analysis by GC-MS

25 mL of sample adjusted to 40 % v/v of ethanol and 2.5 g of NaCl were added to a glass tube. 50 µL of internal standard (ethyl undecanoate: 500 mg/L; 3,4-dimethylphenol: 300 mg/L in absolute ethanol) were added to the solution. For the extraction, 4 mL of pentane/dichloromethane (80:20 v/v) were added to the solution. The sample was then homogenized using a vortex for 3 min. The organic layer (upper layer) was recovered after decantation and was concentrated to 0.3 mL with a Kuderna-Danish apparatus under nitrogen flow. The extract was then analyzed by gas chromatography coupled with a mass spectrometer (GC-MS). For GC analysis, a DB-Wax fused silica WCOT column (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm from J&W Scientific) was used. 1 µL of sample was injected in splitless mode and the oven temperature program was the following: 0.7 min at 35 °C, raised at 20 °C/min to 60 °C, then raised at 4 °C/min to 200 °C, then 9° C/min to 243 °C for 45 min. The detector was used in scan mode (m/z 30-300 uma; 5 scans/sec) and Single Ion Monitoring Ion (SIM) mode with an ionization voltage of 70 eV. The temperature of the ion source was set at 230 °C. Identification was performed by comparing the retention index and mass spectra to those of standards when available, and to mass spectra from NIST libraries. Quantitation and semi-quantitation were done by either full scan mode or SIM mode. As previously, calibration curves allowed the quantitation and information about the stock solution, calibration and ion fragments used for quantitation are reported in **Table IV.2**.

IV.2.3.4.3 PFBHA derivatization for carbonyl analysis by GC-MS (Snakkers et al., 2015)

To quantitate carbonyl volatile compounds, 10 mL of sample adjusted at 40 % v/v of ethanol and 50 µL of internal standard (4-heptanone at 26.3 mg/L for ketones; 2,2-dimethylpropanal at 26.7 mg/L for aldehydes, both in absolute ethanol) were added in a glass tube. Then, 1 mL of PFBHA at 18 g/L in ultrapure water was added to the solution. The solution was briefly stirred and left to react for 1 hour, away from light. 2 mL of pentane was added and the tube was vortexed for 2 min. The organic phase was collected and reduced to 0.2 mL by using a Kuderna-Danish column under a nitrogen flow. The extract was then analyzed by GC-MS. An Agilent DB5 MS (60 m x 0.25 mm x 1 µm) capillary column was used. A splitless injection of 2 µL of sample was performed. The oven temperature program was the following: 35°C for 0.8 min, raised 10°C/min to 170°C then 3°C/min to 300°C held for 10 min. The chromatographic data were obtained by HP Chemstation software (Agilent). Identification was performed by comparing the retention time and mass spectra to those of standards. Linear regression was used for quantitation. Information about the calibration are reported in **Table IV.2**.

IV.2.4 Statistical analysis

Data are represented by the mean $\pm$ the standard deviation performed on 3 analyzed samples. The hypothesis of the homogeneity of variance was rejected by the Levene test with a significance level of 5 %. Hence, non-parametric Mann-Whitney tests were used in order to ascertain the significant differences between the quantity of a volatile compound before distillation (1st distillation: wine; 2nd distillation: brouillis) and the quantity retrieved after the process (all distillate fractions and liquid remaining in the boiler). All statistical analyses were performed using Microsoft Excel Software.

IV.2.5 Establishing a mass balance of the distillation of cognac spirit

An overall mass balance of the volatile compounds previously quantified in wine and each distillate fraction was performed by calculating the volatile compounds' mass present at the beginning in wine and in each fraction (1st distillation: brouillis' head, brouillis, and wine residual; 2nd distillation: heads, heart, 2nd, tails, and brouillis residual) throughout the whole distillation process. Thus, a comparison was made between the mass of a volatile compound in the wine before the first distillation and its mass in the resulting fractions, i.e. brouillis' head, brouillis and wine residual. Mass determination of a volatile compound was determined by multiplying the volatile compound's concentration measured in each fraction with its volume. The same principle was applied for the second distillation. Moreover, a mass balance was performed on ethanol in order to assess its recovery ratio during the distillation process. The ethanol content in stillage is known to be under 0.2 % v/v and was considered at 0 % v/v in this study. Regarding the ratio between the volume of ethanol after process and loaded in the boiler, a value of 1.01 for the first distillation and 0.98 for the second distillation were obtained. This mass balance indicates that no loss of ethanol occurred during both distillations (without recycling).

IV.2.5.1 Evaluating the sensory impact of the distillation process on the heart fraction

The sensory impact of the charentaise distillation on the heart fraction was estimated for volatile compounds that have increased amounts after the process. The quantity of volatile compound formed during distillation and present in the heart fraction was converted into concentration. This concentration was then compared to odor thresholds reported in the literature when available.

IV.2.6 Results and discussion

Establishing mass balances allowed to evaluate the quantitative evolution of the volatile compounds before distillation and afterward. Moreover, the quantitative analysis on each fraction allowed to assess the behavior of each volatile compound during the process. **Table IV.3** indicates the status of the volatile compounds upon completion of the process. The term “generated” indicates that a compound was not detected in wine and was formed during the distillation process. The term “raised” signifies that a volatile compound was already present in wine but its quantity increased after the completion of the distillation process. The compounds generated or raised are in bold and are discussed in this article. The term “slightly” was used to mark the compound’s quantity after distillation as significantly different from its mass before distillation, but having low variations (compounds’ mass raised but less than twice their initial mass) or low amounts raised/degraded (involving less than 10 mg in total). The results shown are sorted by chemical family. The mass balance ratio (total mass after distillation divided by the initial mass) is also indicated in **Table IV.3** in parenthesis.

According to **Table IV.3**, alcohols remain steady throughout both distillations. This chemical family will not be discussed. For the carbonyl compounds, the mass of 1-octen-3-one is only slightly raised after the first distillation and steady after the second, therefore, only aldehydes are generated or raised upon completion of the process and will be discussed.

IV.2.6.1 Formation of esters

Two esters were formed during the distillation process: isoamyl acetate and ethyl succinate. **Figure IV.1A** shows that the mass of these esters increases during the first heating. Isoamyl acetate was detected in wine but had an increased mass at the end of the first heating. The quantity of ethyl succinate, while under the limit of quantification (LOQ) in wine, was quantitated above the LOQ after the first distillation. This indicates the raise in quantity of this compound due to the process. Ethyl formate, while not detected in wine, was detected below its limit of quantitation after completion of the first distillation. Thus, the presence of ethyl formate indicates that this compound was formed during the first distillation. The reaction of esterification could take place throughout the distillation process and could explain the augmentation of esters observed. Indeed, the esterification has been shown to occur during the distillation of rum (Méjane and Piquois, 1975). Ethyl esters were formed from the corresponding carboxylic acid and alcohol, present in excess in wine.

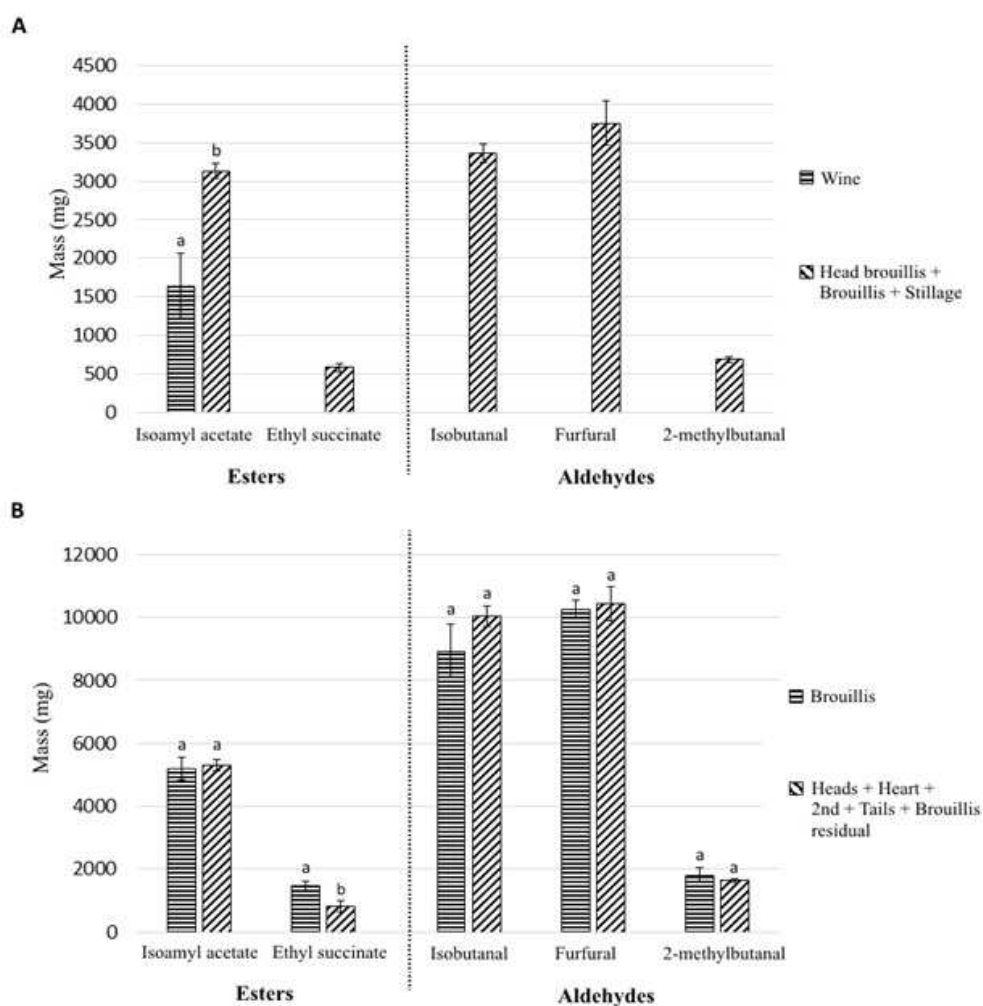


Figure IV.1 : Overall mass balance on esters and aldehydes established before and after both distillations. A: first distillation B: second distillation. a a = no significant differences quantities of a volatile compound before and after the distillation process. a b = significant differences between quantities of a volatile compound before and after the distillation process. Error bars: standard deviation performed on 3 analyzed samples

3-methylbutanol and acetic acid are responsible for the formation of isoamyl acetate (Li et al., 2012) and were quantified at 0.18 g/L (470 g) and 9.22 g/L (23.5 kg) respectively in wine (data not shown). Hence, the amounts of 3-methylbutanol and acetic acid required to form the esters had a low impact on their mass balances. Although isoamyl acetate seems to be formed upon the first distillation, internal data showed that this compound usually decreases throughout the charentaise distillation. One can imply that the augmentation of isoamyl acetate observed may be specific to the wine used in this study and is not representative of the entire range of wines as a whole.

Tableau IV.3 : List of volatile compounds monitored during the charentaise distillation of cognac spirit. In bold = the aroma compounds generated during the distillation and studied in this article. ^aRatio : total mass of volatile compound after distillation / initial mass of volatile compound before distillation.

Compound	1 st distillation			2 nd distillation		
	Mass in 2550 L of wine (mg)	Mass of compound in 4.50 L heads+ 834 L brouillis + 1711.50 L stillage (mg)	Ratio	Mass for 2500 L of brouillis (mg)	Mass of compound in 10 L heads+ 737.4 L heart+ 513.6L 2nd+ 94.75L tails+ 1144.25L brouillis residual (mg)	Ratio
ALCOHOLS						
Methanol ¹	96856	100299	1.04	265338	272402	1.03
Propanol ¹	85201	87596	1.03	251518	265764	1.06
Isobutanol ¹	177828	191173	1.08	543449	572971	1.05
1-butanol ¹	993	1011	1.02	2741	2981	1.09
2-methylbutan-1-ol ¹	120201	129473	1.08	367104	380805	1.04
3-methylbutan-1-ol ¹	466607	496793	1.06	1416871	1515531	1.07
1-hexanol ¹	2914	3103	1.06	8920	9150	1.03
Phenyl-2-ethanol ¹	43166	47821	1.11	76652	52671	0.69
<i>Trans</i> -3-hexen-1-ol ²	34.9	35.7	1.02	97.5	92.6	0.95
<i>Cis</i> -3-hexen-1-ol ²	574.3	579	1.01	1643	1656	1.01
ESTERS						
Ethyl formate ¹	N.D.	<LOQ	Generated	955.8	1818	1.90
Isoamyl acetate ¹	1400	3195	2.28	5116	5279	1.03
Ethyl hexanoate ¹	1169	2049	1.75	2446	3085	1.26
Ethyl lactate ¹	431013	360128	0.84	711875	623486	0.88
Ethyl octanoate ¹	2392	3436	1.44	5188	5451	1.05
Ethyl decanoate ¹	847	1393	1.65	3028	3715	1.23
Ethyl succinate ¹	<LOQ	585	-	1461	822	0.56
CARBONYL						
Isobutanal ¹	N.D.	3386	Generated	8927	10048	1.13
Furfural ¹	N.D.	3953	Generated	10249	10434	1.02

Butanal ³	2.6	9.2	3.54	21.1	14.3	0.68
2-methylbutanal ³	<LOQ	676.8	-	1813.0	1640	0.91
Pentanal ³	6.25	14.8	2.36	46.8	38.4	0.82
Octanal ³	<LOQ	1.1	-	3.7	4.6	1.23
<i>Trans</i> -2-nonenal ³	0.07	1.3	18.43	4.5	5.7	1.27
Decanal ³	0.98	2.2	2.29	5.6	7.3	1.31
1-Octen-3-one ³	0.05	0.4	7.80	1.9	1.5	0.80
TERPENES						
Hotrienol ²	<LOQ	71	-	197.1	192.1	0.97
Myrcenol ²	<LOQ	34.50	-	93.0	62.4	0.67
α -terpineol ²	11	61	5.51	159.2	158.0	0.99
Terpinene-4-ol ²	<LOQ	2.6	-	10.7	11.0	1.03
NORISOPRENOIDS						
Vitispiranes 1 ²	<LOQ	33.6	-	87.5	93.4	1.07
Vitispiranes 2 ²	<LOQ	28.6	-	74.2	89.0	1.20
β -cyclocitral ²	<LOQ	5.7	-	15.2	15.4	1.02
Riesling acetal ²	1	23.2	17.80	63.3	58.6	0.93
Actinidol 3 ²	N.D.	11.6	Generated	31.7	33.1	1.05
Actinidol 4 ²	N.D.	8.4	Generated	23.3	25.0	1.07
1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN) ²	<LOQ	57.5	-	131.3	250.0	1.95
β -damascenone ²	29	54.5	1.88	145.8	146.5	1.00
(<i>Trans</i>)-1-(2,3,6)-trimethylphenyl)-buta-1,3-diene (TPB) ²	N.D.	5.2	Generated	11.7	29.7	2.55
Actinidol 1 ²	N.D.	121.8	Generated	296.7	247.1	0.83
Actinidol 2 ²	N.D.	161.5	Generated	391.7	314.8	0.80
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one (TMPBA) ²	<LOQ	24.3	-	56.4	58.7	1.04
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (TMPBE) ²	<LOQ	66.1	-	148.8	135.5	0.91

Thus, **Figure IV.1B** shows the mass of esters measured in 3 brouillis gathered in the boiler. The mass of isoamyl acetate remained stable while the mass of ethyl succinate slightly decreased. Ethyl formate was not detected in the wine but detected in the brouillis. This suggests that ethyl formate was generated during the first distillation. This compound remained steady throughout the second distillation but was present at low concentrations. Therefore, ethyl formate was not selected for this study. According to the study of Williams, (1962) carboxylic acids possess an absolute volatility that favors their presence in the liquid phase rather than in the gas phase. Hence, low amounts of carboxylic acids are present in spirits (Nykänen et al., 1968) in comparison to their concentration in wine. It is to be noted that, the wine being at pH 3.3 and the stillage being at pH 3.2, the protonated form of acetic acid is favored according to its pKa value of 4.75 (Bruice, 2007) throughout the first distillation. Hence, under these conditions, the acid is volatile. This would explain its presence in spirits (Nykänen et al., 1968). Therefore, the diminished amounts of acids in the brouillis during the second distillation would prevent the reaction of esterification from taking place and would explain the relative stability of the mass of isoamyl acetate. The slight decrease of the mass of ethyl succinate observed in **Figure IV.1B** may come from the hydrolysis reaction or from thermal degradation. These observations suggest that the first heating is determinant in esters' formation whereas the second heating seems to have no effect on isoamyl acetate and a minor impact on ethyl succinate (its mass being significantly different after distillation according the Mann-Whitney test).

To have a sensory impact on the cognac spirit, a newly formed volatile compound must be present in the heart, which corresponds to the cognac spirit. Thus, **Table IV.4** presents the repartition of isoamyl acetate and ethyl succinate in the different fractions representing the distillation after completion. Namely, the brouillis' head, brouillis and stillage for the first distillation; the heads, heart, seconds, tails and brouillis residual for the second distillation. At the end of the first distillation, ethyl succinate is exclusively present in the brouillis while isoamyl acetate is mostly found in brouillis but in brouillis' head as well. For the second distillation, **Table IV.4** indicates that isoamyl acetate is mainly found in the heart, meaning that the quantity of this compound formed during the first distillation is present in the cognac spirit. This observation is in accordance with the studies of Hernández-Gómez et al. (2005) and Léauté, (1990) that classified short chain esters in the group of compounds that mainly distill in the head and initial heart fractions because of their low boiling point (i.e. high volatility). Isoamyl acetate possesses a banana note (Cantagrel et al., 1996).

The quantity of isoamyl acetate formed through the charentaise distillation corresponds to concentration of 3.18 mg/L in the heart, which is above the isoamyl acetate's odor threshold of

0.245 mg/L determined in whisky (Poisson and Schieberle, 2008). One can expect that this ester, formed during distillation, may contribute to the overall cognac spirit's aroma. Also, according to the data obtained, only ethyl succinate is present exclusively in the seconds and is then withdrawn from the heart. Lukić et al. (2011) had noted an analogous behavior for this volatile compound. This compound is characterized by having a high boiling point and polarity and is highly soluble in water, which is one of the main reasons it distilled in the seconds fraction (Léauté, 1990). In the case of a distillation conducted with recycling, the seconds fraction would be added in the brouillis of a subsequent second heating. Due to this recycling, the quantity of ethyl succinate contained in the brouillis could increase and be present in the heart fraction, and therefore, in the cognac spirit.

IV.2.6.2 Formation of aldehydes

According to **Table IV.3**, only the masses of isobutanal, furfural and 2-methylbutanal are generated or raised after the first distillation. The mass balances were performed on these compounds and are represented in **Figure IV.1A**. Isobutanal, furfural and 2-methylbutanal are not present in wine prior to distillation and are quantified at 3360, 3750 and 690 mg, respectively, at the end of the first heating. These three aldehydes are entirely formed during the first step of the distillation. Strecker degradation can form a series of many Strecker aldehydes, for instance, isobutanal and 2-methylbutanal. Studies have shown that glyoxal and valine are precursors of isobutanal (Galy et al., 2008). Moreover, a correlation has been established between heat intensity and isobutanal formation. The higher the heat intensity, the greater the isobutanal mass found in the brouillis (Galy et al., 2008). Furfural can be formed thermally by degradation of a five-carbon monosaccharide, commonly referred to as pentose, and is a pH-dependent reaction (Danon et al., 2014). Pentoses could comprise approximately 28% of the reducing sugar content of a dry wine (Esau, 1967). Among pentoses present in wine, arabinose is reported to occur in highest concentrations, followed by rhamnose (Zoecklein et al., 1999). Furfural is a volatile compound having a sweet odor (Culleré et al., 2004). In **Figure IV.1B**, during the second heating masses of isobutanal, furfural and 2-methylbutanal remain unchanged. Pentoses and amino acids do not distillate in the brouillis, therefore they are not present during the second distillation. Thus, the absence of reactants would prevent the Strecker degradation and pentoses degradation from occurring and could explain the steadiness of these three aldehydes during the second heating.

Tableau IV.4 : Repartition of each ester and aldehyde shown for every fractions at the end of the first and second distillation. Values of concentrations are given as mean $\pm$ SD. The percentage value is obtained by: mass of volatile compound in given fraction / total mass of volatile compound in all fractions.

1st distillation

Compound	Brouillis head		Brouillis		Stillage	
	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)
ESTERS						
Isoamyl acetate	288.75 $\pm$ 19.08	41.5	2.19 $\pm$ 0.05	58.5	N.D.	0.0
Ethyl succinate	N.D.	0.0	0.70 $\pm$ 0.06	100.0	N.D.	0.0
ALDEHYDES						
Isobutanol	2.76 $\pm$ 0.08	0.4	4.16 $\pm$ 0.24	99.6	N.D.	0.0
Furfural	N.D.	0.0	4.56 $\pm$ 0.09	98.1	N.D.	1.9
2-methylbutanal	1.16 $\pm$ 0.18	0.8	0.84 $\pm$ 0.07	99.2	N.D.	0.0

2nd distillation

Compound	Heads		Heart		Seconds		Tails		Brouillis residual	
	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)
ESTERS										
Isoamyl acetate	58.99 $\pm$ 6.67	11.3	6.41 $\pm$ 0.17	88.7	N.D.	0.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0
Ethyl succinate	N.D.	0.0	N.D.	0.0	1.53 $\pm$ 0.37	95.2	1.23 $\pm$ 0.75	4.8	N.D.	0.0
ALDEHYDES										
Isobutanol	151.05 $\pm$ 15.96	15.0	11.58 $\pm$ 0.30	85	N.D.	0.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0
Furfural	2.73 $\pm$ 0.23	0.3	6.63 $\pm$ 0.27	46.9	9.26 $\pm$ 0.07	43.6	11.76 $\pm$ 6.93	3.9	1.27 $\pm$ 0.72	5.3
2-methylbutanal	23.72 $\pm$ 0.98	16.2	1.87 $\pm$ 0.02	83.8	N.D.	0.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0

According to **Table IV.4**, at the end of the first heating, isobutanol, furfural and 2-methylbutanal are almost exclusively found in the brouillis. However, after the second heating, furfural is present in equal amounts in the heart and seconds while isobutanol and 2-methylbutanal are mainly found in the heart. This observation can be explained by the high boiling point of furfural and its solubility in water. Thus, the furfural's potential sensory impact on cognac spirit is lessened by the second heating process. In the case of a distillation which recycles the seconds fraction in the brouillis, the furfural contained in the seconds fraction will be added in the brouillis of a subsequent second heating. Thus, this recycling will increase the furfural content in this subsequent brouillis and could lead to an increase of the furfural masses in the heart and seconds. In the end, concentrations of 11.58, 6.53 and 1.87 mg/L were found in the heart fraction, for isobutanol, furfural and 2-methylbutanal respectively. Since isobutanol and furfural were solely generated from the distillation process, and 2-methylbutanal was present at low concentration in wine, one could consider that the concentrations of these three compounds quantified in the heart represent the impact of the distillation on the freshly distilled cognac spirit. According to the literature, odor thresholds of isobutanol and furfural are 0.0059 (Poisson and Schieberle, 2008) and 5.80 mg/L (Salo et al., 1972) in a solution of 40 %v/v of ethanol. For 2-methylbutanal, its odor threshold is estimated at 0.003-0.013 mg/L (Czerny et al., 2008) in water. Hence, these aldehydes could contribute to the overall organoleptic profile of freshly cognac spirit with isobutanol having a malty (Czerny et al., 2008) aroma while 2-methylbutanal possesses a malty, (Badings, 1991; Czerny et al., 2008) chocolate note (Badings, 1991).

IV.2.6.3 Formation of terpenes and norisoprenoids

Terpenes and norisoprenoids have been identified as important contributors in the freshly distilled cognac spirit's aroma (Ferrari et al.; Leyrat et al., 2005). During the distillation, terpenes and norisoprenoids show a similar evolution and low masses were quantified in comparison with aldehydes and esters.

Figure IV.2A shows that the masses of α -terpineol, hotrienol and myrcenol raised after the first distillation. Indeed, 10 mg of α -terpineol were quantified in wine and 60 mg were found upon completion of the first heating. Low amounts of hotrienol and myrcenol were measured in wine while 70 and 35 mg were quantified after the first distillation, respectively.

Figure IV.2B indicates that the masses of α -terpineol, hotrienol and myrcenol are steady during the second distillation.

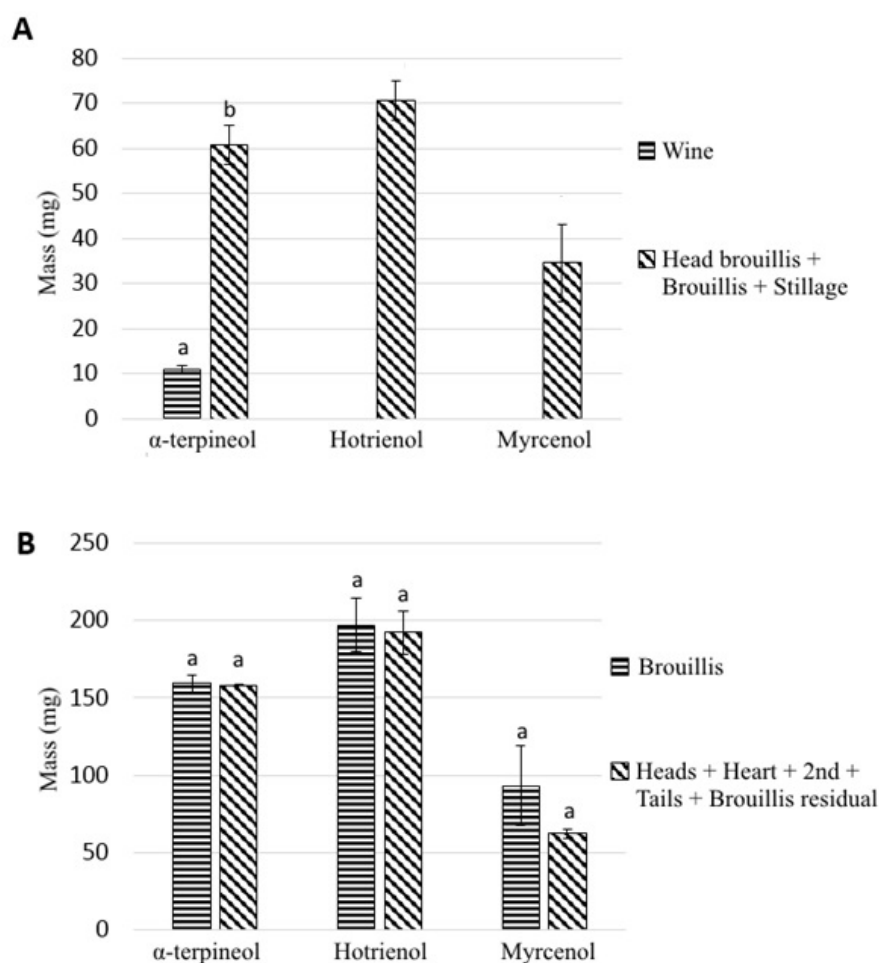
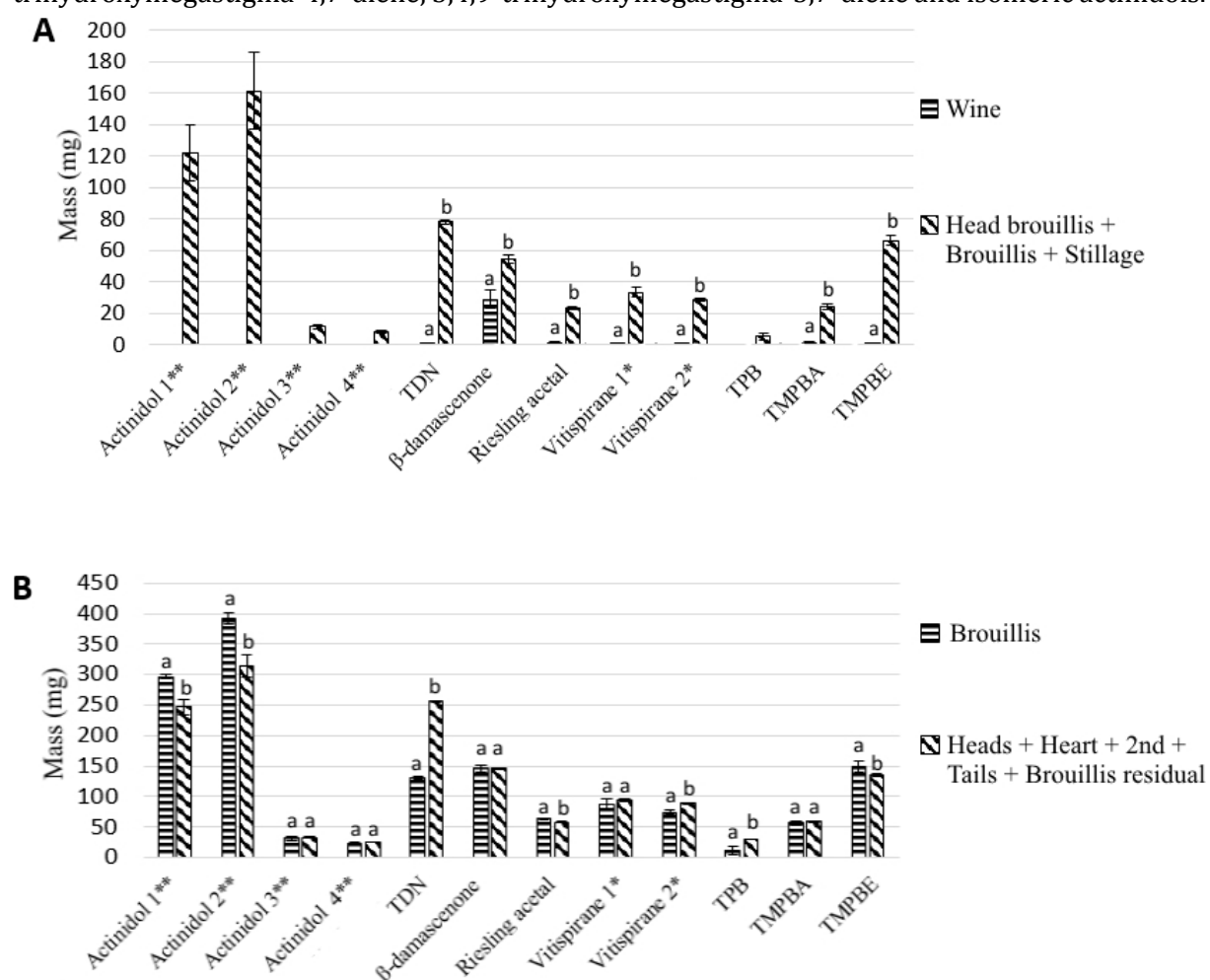


Figure IV.2 : Overall mass balance on terpenes established before and after both distillations. A: first distillation B: second distillation. a a = no significant differences quantities of a volatile compound before and after the distillation process. a b = significant differences between quantities of a volatile compound before and after the distillation process. Error bars: standard deviation performed on 3 analyzed samples

Figure IV.3A shows that the quantities of 12 norisoprenoids are generated or raised during the first heating. In **Figure IV.3B**, different tendencies can be noted. The masses of actinidol 1 and 2 decrease during the second heating while masses of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) and 1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene (TPB) continue to increase. The eight other norisoprenoids remain at steady amounts. Norisoprenoids and terpenes can be present in wine in a glycosylated form (Günata et al., 1985; Crupi et al., 2010). The occurrence of glycosidically bound volatile compounds is typically two to eight times greater than that of their free counterparts (Günata et al., 1985).

Acid hydrolysis under mild conditions (pH = 3) and catalyzed by heat can liberate the volatile compound from its glycosyl moiety (Günata et al., 1985; Sefton et al., 1994). Thus, the drastic increase of norisoprenoids and terpenes amounts observed during the first distillation process certainly come from these glycosylated precursors. Moreover, these precursors are not volatile, hence, are not present in the brouillis, which explains the stable quantities of the 7 norisoprenoids and terpenes observed during the second heating step. (E)-1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene (TPB), having floral, geranium and tobacco notes (Janusz et al., 2003), was found to have an increased quantity after the second heating which indicates that a different type of precursor is involved in its formation. A reaction pathway for the formation of TPB was proposed by Cox et al., (2005) to take place by acid hydrolysis of intermediate megastigma precursors, namely 3,6,9-trihydroxymegastigma-4,7-diene, 3,4,9-trihydroxymegastigma-5,7-diene and isomeric actinidols.



Moreover, one can remark the slight decrease of actinidol 1 and 2 during the second heating (**Figure IV.3B**), suggesting that they may directly be involved in TPB formation. 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN), having a well-known off flavor of kerosene (Mendes-Pinto, 2009; Sacks et al., 2012), has an increasing amount throughout both distillations as well. This observation implies that the quantity of TDN is not only raised upon acid hydrolysis of its

glycosylated precursors but possesses other precursors involved in its formation, as stated by Strauss et al., (1987). Indeed, studies proved that Riesling acetal can be a precursor of TDN (Daniel et al., 2009). By looking at **Figure IV.3B**, results show that the mass of Riesling acetal remained stable during the second distillation, suggesting that this norisoprenoid does not intervene in TDN formation.

Table IV.5 and **Table IV.6** show that terpenes and norisoprenoids are mainly found in the brouillis fraction, and then in the heart fraction. The concentrations of norisoprenoids and terpenes found in the heart fraction are comprised between 0.02 mg/L for TMPBA and 0.30 mg/L for TDN. Hence, the quantities of norisoprenoids and terpenes formed during the first distillation and finally present in the heart fraction are low. However their low odor threshold could allow them to have an organoleptic impact on cognac spirit. For instance, the quantity of hotrienol formed through distillation corresponds to a concentration of 0.23 mg/L in the heart fraction. The odor threshold of this compound was estimated at 0.11 mg/L in water (Ho et al., 2015), suggesting that the amount of hotrienol formed potentially has an organoleptic impact on the freshly cognac spirit. Only actinidols 1 and 2 and 4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (TMPBE) are found mostly in the seconds fraction. These norisoprenoids follow a similar behavior than furfural. In other words, a charentaise distillation which recycles the seconds fraction in the brouillis will increase the content of actinidols 1 and 2 and TMPBE in the subsequent brouillis and could lead to an increase of the concentration of these compounds in the heart and seconds.

In summary, establishing a mass balance allowed to determine some of the volatile compounds generated during the charentaise distillation process and to assess their presence in freshly distilled cognac spirit. Thus, 2 esters, 3 aldehydes, 3 terpenes and 12 norisoprenoids were identified as newly formed volatile compounds. In particular, the 4 actinidols, TPB, furfural and isobutanol were completely generated by the distillation process. Their presence in the freshly distilled cognac spirit showed that the distillation process participates in the complex aroma composition of cognac. Results showed that the first distillation is the decisive step where most of chemical reactions occur. Some volatile compounds with raised concentration during distillation have positive notes (such as isoamyl acetate and 2-methylbutanal) whereas others (such as TDN) could be considered as off-flavors at high concentrations. Characterization of the reactions responsible for the formation of these volatile compounds would allow to determine the kinetic constants that would be embedded into a model to predict their generation. This characterization would also allow to assess the optimal reaction conditions (temperature, pH) that would promote their raise or prevent their formation. Thus, the fact that the first distillation is the most reactive

step and knowing the repartition of each volatile compound during the distillation of cognac spirit can lay the basis for the elaboration of a distillation model that could take the chemical reactions into account.

ACKNOWLEDGMENT

This research was funded by the foundation Jean Poupelain. The authors would like to thank the distillers of the Distillerie de l'Antenne (Javrezac, France) for their technical assistance during the sampling campaign.

Table IV.5 : Repartition of each terpene shown for every fractions at the end of the first and second distillation. Values of concentrations are given as mean $\pm$ SD. The percentage value is obtained by: mass of volatile compound in given fraction / total mass of volatile compound in all fractions.

1st distillation

Compound	Brouillis head		Brouillis		Stillage	
	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)
α -terpineol	N.D.	0	6.8E-2 $\pm$ 4.3E-3	100.0	N.D.	0.0
Hotrienol	2.3E-2 $\pm$ 4.0E-2	0.2	8.4E-2 $\pm$ 5.4E-3	99.8	N.D.	0.0
Myrcenol	<LOQ	$\approx$ 0.05	4.0E-2 $\pm$ 1.0E-2	94.94	<LOQ	$\approx$ 5.0

2nd distillation

Compound	Heads		Heart		Seconds		Tails		Brouillis residual	
	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)
α -terpineol	N.D.	0.0	1.48E-1 $\pm$ 5.8E-4	69.3	9.40E-2 $\pm$ 1.5E-3	30.7	N.D.	0.0	N.D.	0.0
Hotrienol	5.17E-2 $\pm$ 5.0E-3	0.3	2.10E-1 $\pm$ 1.2E-2	78.8	7.18E-2 $\pm$ 9.5E-3	19.2	2.32E-2 $\pm$ 2.7E-3	2.2	1.03E-3 $\pm$ 9.8E-4	0.6
Myrcenol	1.41E-2 $\pm$ 3.4E-3	0.2	6.29E-2 $\pm$ 1.7E-4	74.5	3.05E-2 $\pm$ 5.2E-3	25	1.10E-3 $\pm$ 9.5E-4	0.2	N.D.	0.0

Tableau IV.6 : Repartition of each norisoprenoid shown for every fractions at the end of the first and second distillation.1st distillation

Compound	Brouillis head		Brouillis		Stillage	
	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)
Actinidol 1	4.97E-2 ± 1.44E-2	0.2	1.22E-1 ± 3.8E-3	82.6	1.33E-2 ± 7.62E-3	17.3
Actinidol 2	8.23E-2 ± 2.95E-2	0.2	1.59E-1 ± 3.8E-3	82.2	1.78E-2 ± 1.21E-2	17.6
Actinidol 3	N.D.	0.0	1.38E-2 ± 1.5E-3	100.0	N.D.	0.0
Actinidol 4	N.D.	0.0	1.00E-2 ± 1.05E-3	100.0	N.D.	0.0
TDN	5.11E-1 ± 7.1E-2	3.1	6.60E-2 ± 1.41E-3	96.9	N.D.	0.0
β-damascenone	2.05E-1 ± 2.3E-2	2.2	6.40E-2 ± 3.30E-3	97.8	N.D.	0.0
Riesling acetal	N.D.	0.0	2.76E-2 ± 1.07E-3	100.0	N.D.	0.0
Vitispirane 1	1.48E-1 ± 0.00	2.0	3.94E-2 ± 3.38E-3	98.0	N.D.	0.0
Vitispirane 2	1.44E-1 ± 1.4E-2	2.3	3.35E-2 ± 8.10E-4	97.7	N.D.	0.0
TPB	5.93E-2 ± 1.4E-2	5.9	5.96E-3 ± 2.58E-3	94.1	N.D.	0.0
TMPBA	2.21E-2 ± 9.1E-3	0.4	2.50E-2 ± 2.06E-3	85.5	1.99E-3 ± 5.70E-4	14.1
TMPBE	9.63E-2 ± 3.9E-2	0.7	6.80E-2 ± 2.54E-3	85.7	5.26E-3 ± 1.26E-3	13.6

2nd distillation

Compound	Heads		Heart		Seconds		Tails		Brouillis residual	
	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)	Concentration (mg/L)	Percentage (%)
Actinidol 1	N.D.	0.0	6.23E-2 ± 1.5E-3	18.6	3.39E-1 ± 7.9E-3	70.6	0.12 ± 9.15E-2	4.6	1.35E-2 ± 5.91E-3	6.2
Actinidol 2	<LOQ	≈ 0.02	7.77E-2 ± 2.5E-3	18.2	4.29E-1 ± 1.1E-2	70.3	0.16 ± 0.12	4.7	1.91E-2 ± 9.83E-3	6.8
Actinidol 3	N.D.	0.0	4.40E-2 ± 0.0	100.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0
Actinidol 4	N.D.	0.0	3.30E-2 ± 0.0	100.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0	N.D.	0.0
TDN	2.85 ± 0.4	11.1	2.99E-1 ± 2.7E-3	86.1	<LOQ	≈ 2.3	N.D.	0.0	N.D.	0.0
β-damascenone	3.77E-2 ± 4.9E-3	0.3	1.78E-1 ± 1.2E-3	89.8	2.77E-2 ± 5.80E-4	9.7	N.D.	0.0	N.D.	0.0
Riesling acetal	9.33E-3 ± 5.1E-3	0.2	6.77E-2 ± 1.2E-3	85.2	1.60E-2 ± 0.00	14.0	<LOQ	≈ 0.7	N.D.	0.0
Vitispirane 1	8.45E-1 ± 1.1E-1	9.1	1.12E-1 ± 3.1E-3	88.2	<LOQ	≈ 2.7	<LOQ	≈ 0.0	N.D.	0.0
Vitispirane 2	7.16E-1 ± 1.4E-1	8.1	1.08E-1 ± 2.7E-3	89.5	<LOQ	≈ 2.4	N.D.	0.0	N.D.	0.0
TPB	0.21 ± 2.9E-2	7.1	3.60E-2 ± 0.0	89.4	<LOQ	≈ 3.46	N.D.	0.0	N.D.	0.0
TMPBA	7.63E-3 ± 1.3E-3	0.6	2.08E-2 ± 5.1E-4	98.1	7.81E-2 ± 5.3E-4	0.99	2.18E-2 ± 4.2E-3	0.1	<LOQ	≈ 0.3
TMPBE	3.64E-2 ± 4.5E-3	0.1	6.02E-2 ± 1.3E-3	26.2	0.17 ± 3.0E-3	68.3	1.87E-2 ± 1.7E-3	3.5	2.25E-3 ± 1.7E-4	1.9

IV.2.7 Points à retenir

- L'établissement du bilan matière a porté sur le dosage de 43 composés volatils
- Le bilan matière a permis de déterminer les composés volatils formés au cours de la distillation charentaise : 2 esters, 3 aldéhydes, 3 terpènes and 12 norisoprénoïdes ont été identifiés comme étant formés au cours de la distillation.
- Les quantités de l'ensemble des alcools supérieurs ainsi que la majorité des esters ne varient pas lors des deux distillations
- La première distillation est déterminante quant à la réactivité chimique au cours du procédé.
- L'analyse de chaque fraction de distillat et des résidus de distillation a montré que les composés formés se retrouvent essentiellement dans le brouillis et le cœur. L'étape de distillation semble donc avoir une influence sur l'eau-de-vie de cognac.

V. INFLUENCE DU MODE DE CHAUFFE SUR LA GENERATION DE COMPOSES VOLATILS PENDANT LA DISTILLATION DU VIN

V.1 Contexte et objectifs

Dans le chapitre précédent, nous avons pu identifier les composés volatils générés au cours de la distillation charentaise traditionnelle. En particulier, le furfural et l'isobutanol, considérés comme étant des marqueurs de chauffe, ont été vus comme générés lors du procédé de distillation. Nous nous sommes donc interrogés à propos de l'influence que pouvait avoir le mode de chauffe sur la génération de ces composés. Plus précisément, nous avons voulu évaluer la présence de points chauds supposés présents lors d'un chauffage à feu nu. La présence de tels points chauds est considérée comme l'un des facteurs principaux de la formation de composés volatils (Galy et al., 2008).

Aussi, nous avons voulu comparé la composition en composés volatils d'un distillat issu d'une chauffe à feu nu avec celle d'un distillat issu d'une chauffe indirecte à la vapeur. Pour cela, un bilan matière complet suivant le même principe que celui effectué lors de la distillation charentaise, a été établi seulement sur une première chauffe. Effectivement, l'étude précédente a montré que la première distillation est l'étape déterminante quant à la formation en composés volatils.

V.2 Impact of heating method on the formation and partitioning of volatile compounds during the wine distillation process

P. Awad^{1,2}, M. Esteban-Decloux², B. Galy³, P. Giampaoli² and V. Athès¹

¹UMR GMPA, Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, F-78330 Thiverval-Grignon, France

²UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 1 av. des Olympiades, F-91300 Massy, France

³Station Viticole du BNIC, 69 rue de Bellefonds, F-16100 Cognac, France

Article à soumettre

V.2.1 Abstract

The aim of this study was to determine the impact of heating method on the evolution of volatile compounds during the wine distillation process. A small-scale alembic was used to compare a direct open flame heating distillation and an indirect steam heating distillation. Samples of wine, distillate and stillage were collected and analyzed by gas chromatography to establish a mass balance on volatile compounds, known to be present in freshly distilled spirit. Results showed that few differences were observed between the two modes of heating. Finally, the compounds found as being formed or raised are the same than those identified as such in a traditional charentais alembic (Awad et al., 2017). This observation suggests that the small-scale alembic used is representative of a higher volume traditional alembic regarding the chemical reactions taking place during the distillation process.

V.2.2 Introduction

Wine spirit has a complex composition in volatile compounds which contribute to the product's typical aroma perceived by the consumer. These aroma compounds can come from grape, be formed during alcoholic fermentation, concentrated by distillation steps and in part produced by reaction during the distillation process (Frantza et al., 2016; Awad et al., 2017). Maturation in wooden casks may add to the freshly distilled spirit some key volatile compounds from wood. The distillation process is conducted in order to extract the maximum amount of ethanol and positive aroma compounds in the distillate while trying to minimize the concentration of molecules responsible for flavour defects. The production of some spirits, such as whisky, are performed through steam distillation (Gaiser et al., 2002) while others, such as cognac, are exclusively produced through open flame distillation (Caumeil, 1983; Léauté, 1990; Awad et al., 2017) as compelled by the Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) or "Controlled Designation of Origin" decree. (Décret n° 2015-10 du 7 janvier 2015 relatif à l'appellation d'origine contrôlée « Cognac » ou « Eau-de-vie de Cognac » ou « Eau-de-vie des Charentes »).

Indeed, distillation of cognac spirit is a batch process, conducted in two steps, according to the "charentaise" distilling method: the first one consists of distilling a wine introduced in the boiler in order to obtain a first distillate with an ethanol content of 30 % v/v. This distillate is then brought back to the boiler for a second distillation to obtain a cognac spirit with an ethanol content around 70 %v/v. In a traditional distillation, the boiler is directly heated by a flame, and as the burner is fed by a gas, the gas pressure given by the gas cabinet throughout the distillation is directly linked to the power delivered to the boiler. The wine contained in the boiler is first brought to its boiling point using a high gas pressure to the burner. Once the swan neck that connects the boiler and the cooling reaches a certain temperature, the gas pressure is reduced to prevent the wine from over boiling in the distillate. Each cognac house has its own way of distilling cognac spirits. Some prefer to perform a sharp rise in temperature to rapidly bring the solution to its boiling point whereas others will prefer a slower rise.

Moreover, our recent study has shown that some volatile compounds found in cognac spirit are formed during distillation due to chemical reactions induced by high temperature during the process. Some esters, aldehydes, norisoprenoids and terpenes were shown to be generated during the process, and that the first distillation step was decisive for the formation of these volatile compounds (Awad et al., 2017). As some esters, aldehydes, norisoprenoids and terpenes are mostly generated during the first step of distillation of cognac spirit (Awad et al., 2017), the present study will focus on that step. Esters are suspected to be generated through esterification

between alcohols and carboxylic acids, as it has been shown to occur during the distillation of rum (Méjane and Piquois, 1975). Aldehydes are supposed to be formed by the Strecker degradation which is a temperature and pH dependent reaction (Franitza et al., 2016).

The aim of this study is to compare the direct open flame heating with indirect steam heating during the first distillation of wine by assessing the impact on the composition of volatile compounds and their partitioning after the process. Heating by a direct open flame is indeed suspected to enable the formation of hot spots at the bottom of the boiler. On the other hand, using an indirect steam heating should allow a homogeneous heating that prevents hot spots from appearing and is expected to lessen the generation of volatile compounds that have thermal dependent reactions involved in their formation.

V.2.3 Materials and methods

V.2.3.1 Raw material

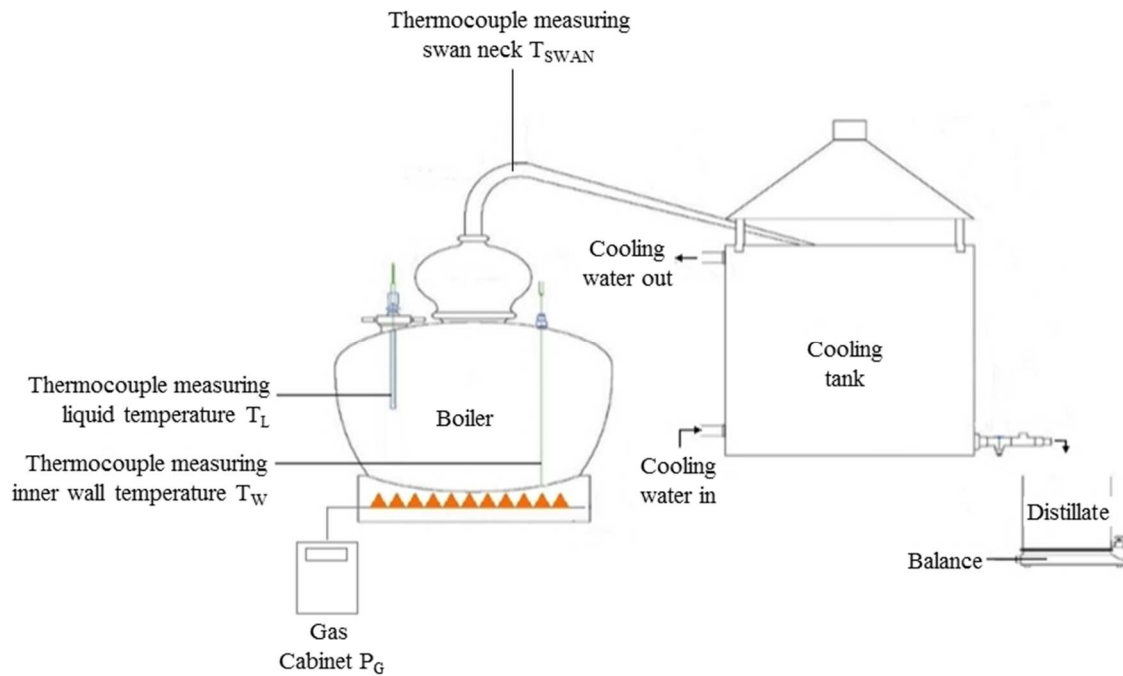
An Ugni grape variety white wine without lees, and having an alcohol strength of 9.5 %v/v and pH 3.3, was used for this study. The alcohol content of the wine was measured by a traditional ebulliometer (Dujardin-Salleron).

V.2.3.2 The small-scale 70 L copper pot still

A small-scale copper pot still with a boiler capacity of 70 L was used to perform all the distillations. A gas burner was mounted beneath the boiler to allow a direct open flame heating. An electronic valve allows to adjust the gas pressure and therefore the heating intensity. A type K thermocouple from Omega (Manchester, United Kingdom) made of chromel alloy, diameter 0.25 mm, was placed against the inner wall at the bottom of the boiler and maintained against the inner wall by a metallic rod to record properly its temperature during the distillation process (**Figure V.1A**). A second type K thermocouple was placed at the center of the boiler to record the temperature of the solution contained in the boiler. T_L , T_W , T_{SWAN} , and P_G were obtained and recorded through LabVIEW software (National Instruments). A parallel steam heating circuit was installed on the alembic. A stainless steel 316L tubular heat exchanger from Barriquand (Roanne, France) placed next to the boiler. A 3M pumps with an ABB centrifuge motor having a nominal flow from 250 to 1000 L/h circulated the wine between the boiler and the heat exchanger. The maxi 16 steam generator from Aura industrie (Torvilliers, France), having a vapor production capacity of 15 kg/h, was connected to the heat exchanger. The steam temperature at the heat exchanger inlet was 113 °C and the condensates temperature was 110 °C at the outlet. **Figure V.1B** describes the

whole apparatus. At the end of each distillation, the distillate and stillage were sampled. Two wine distillations with different types of heating were conducted: a direct open flame and a steam heating.

A



B

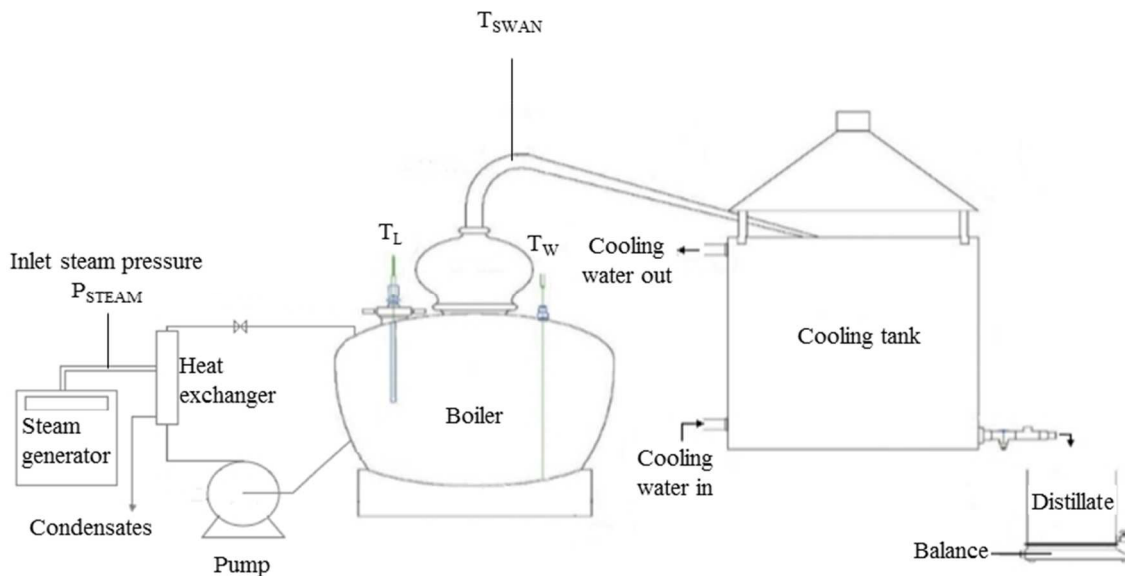


Figure V.1: The small-scale pot still used during the charentaise distillation. A. open flame heating apparatus B. Steam heating apparatus.

V.2.3.3 Conducting the two distillations

V.2.3.3.1 Direct open flame heating

The direct open flame heating was performed by loading 70.69 kg of wine in the boiler. The heating relative gas pressure was fixed at 750 mbar until the appearance of the first distillate drop. Then, the relative gas pressure was reduced to 150 mbar until completion of the distillation. The heating was stopped when the flowing distillate reached an alcohol content of 3 %v/v.

V.2.3.3.2 Steam heating

The steam heating was conducted by loading 70.57 kg of wine in the boiler. The steam temperature was set at 113 °C for 40 min at a relative pressure of 0.6 bar. The steam temperature was then reduced to 102 °C and gradually increased to 108 °C. The distillation was stopped when the alcohol content of the flowing distillate reached 3 %v/v.

V.2.3.4 Laboratory scale distillation under low pressure

Volatile compounds such as norisoprenoids and terpenes are present below the limit of quantification in wine and stillage. Therefore, an additional step using laboratory scale distillations was required to further concentrate the volatile compounds in these samples, as previously described (Awad et al., 2017). Briefly, the ethanol content of all samples were first adjusted to 9.5 % v/v. (corresponding to the wine's alcohol content). These samples were then concentrated using a rotary evaporator. 740 mL of sample were added in a 1 L flask. The temperature of the water-bath was set at 40°C and the pressure was set at 60 mbar. Laboratory scale-distillation was performed until 100 mL of distillate, having a 40 % v/v alcohol content, were obtained. The distillate was then analyzed according to the method used.

V.2.3.5 Quantitative analysis by gas chromatography

For the analysis of all volatile compounds selected for this study (**Table V.1**), three different sample preparations were performed: direct injection, pentane/dichloromethane extraction and O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) derivatization. Sample preparation and chromatographic conditions were described in our previous work (Awad et al., 2017).

Table V.1: List of volatile compounds monitored during distillation. ¹Direct injection. ²Pentane/dichloromethane extraction. ³PFBHA derivatization. ^aRetention index. ^bLimit of quantification. SQ = semi-quantification

Compound	RI ^a	Ion selected (m/z) for SIM quantification	Quantification	LOQ ^b (mg/L)
ALCOHOLS				
Methanol ¹	901	-	Std	0.5
Propanol ¹	1041	-	Std	0.5
Isobutanol ¹	1103	-	Std	0.5
1-butanol ¹	1152	-	Std	0.5
2-methylbutan-1-ol ¹	1209	-	Std	0.5
3-methylbutan-1-ol ¹	1211	-	Std	0.5
1-hexanol ¹	1356	-	Std	0.5
Phenyl-2-ethanol ¹	1921	-	Std	0.5
<i>Trans</i> -3-hexen-1-ol ²	1355	67	SQ <i>cis</i> -3-hexen-1-ol	0.06
<i>Cis</i> -3-hexen-1-ol ²	1375	67	Std	0.06
ESTERS				
Ethyl formate ¹	811	-	Std	1
Ethyl butyrate ¹	1022	-	Std	0.5
Isoamyl acetate ¹	1112	-	Std	0.5
Ethyl hexanoate ¹	1224	-	Std	0.5
Ethyl lactate ¹	1336	-	Std	1
Ethyl octanoate ¹	1427	-	Std	0.5
Ethyl laurate ¹	1841	-	Std	0.5
ALDEHYDES				
Isobutanal ¹	804	-	Std	0.5
Furfural ¹	1449	-	Std	0.5
2-methylbutanal ³	-	281+266+253	Std	0.2
3-methylbutanal ³	-	281+266	Std	0.04
Butanal ³	-	239+250	Std	0.0033
Pentanal ³	-	239+222	Std	0.0067
NORISOPRENOIDS				
Vitispiranes 1 ²	1531	192	SQ β-damascenone	0.013
Vitispiranes 2 ²	1534	192	SQ β-damascenone	0.013
Riesling acetal ²	1636	148	SQ β-damascenone	0.0067
1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN) ²	1743	142	Std	0.013
β-damascenone ²	1818	121	Std	0.0067
(<i>Trans</i>)-1-(2,3,6)-trimethylphenyl)-buta-1,3-diene (TPB) ²	1819	157	SQ TDN	0.0033
Actinidol ²	1939	163	SQ linalool	0.013
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one (TMPBA) ²	2222	132	SQ β-citronellol	0.0017
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (TMPBE) ²	2289	173	SQ β-citronellol	0.0017
TERPENES				
Linalool ²	1534	71	Std	0.017
Hotrienol ²	1595	71+82	SQ with β-citronellol	0.0005
Myrcenol ²	1596	59	SQ with β-citronellol	0.0033
α-terpineol ²	1688	59	Std	0.033
β-citronellol ²	1752	95+109	Std	0.0033

The compounds were quantified with reference to a calibration table established with pure standard compounds. Most pure chemicals were purchased from Sigma-Aldrich-Fluka (St. Quentin Fallavier, France) and the others from Interchim (Montluçon, France), ACROS Organics (Noisy-Le-Grand, France), Merck-Eurolab (VWR International S.A.S, Fontenay-sous-Bois, France).

V.2.3.6 Method to determine the yield of ethanol during the distillation

First, the densities of the wine and the distillate were measured by a pycnometer and a DMA35 (Anton Paar) device, respectively. A balance was placed at the distillate output to measure the mass of distillate produced upon completion of the process. Thus, a distillation yield was calculated based on the mass of ethanol retrieved in the distillate divided by the mass initially present in the wine.

V.2.3.7 Establishing a mass balance of volatile compounds throughout the two wine distillations

To establish a mass balance on the distillation, the mass of wine, distillate and stillage were recorded. Then, an overall mass balance of a given volatile compounds was performed by calculating the volatile compounds' mass present in wine, distillate and stillage throughout the whole distillation process. The concentrations given by GC-FID and GC-MS were converted from mg/L to ppm by dividing the concentration with the density of the corresponding sample. The mass of a volatile compound was then calculated by multiplying the volatile compound's mass fraction measured in each sample with the corresponding total mass of each fraction. Thus, a comparison was made between the quantity of a volatile compound present in wine before the heating and its quantity present in the resulting fractions, i.e. distillate and stillage.

V.2.4 Results and discussion

V.2.4.1 Are there hotspots on the alembic's wall during the direct open flame distillation?

The temperatures between the inner wall and the wine for the two distillations are displayed in **Figure V.2**. Two phases can be distinguished: phase I where the wine is brought to boiling point and phase II where the temperature increases at a gentler rate due to the decreasing concentration of ethanol. For the open flame heating, **Figure V.2A** shows that there is a temperature difference of 30 °C between the inner wall and the liquid during phase I. On phase II, the inner wall temperature is only 5 °C higher than the liquid.

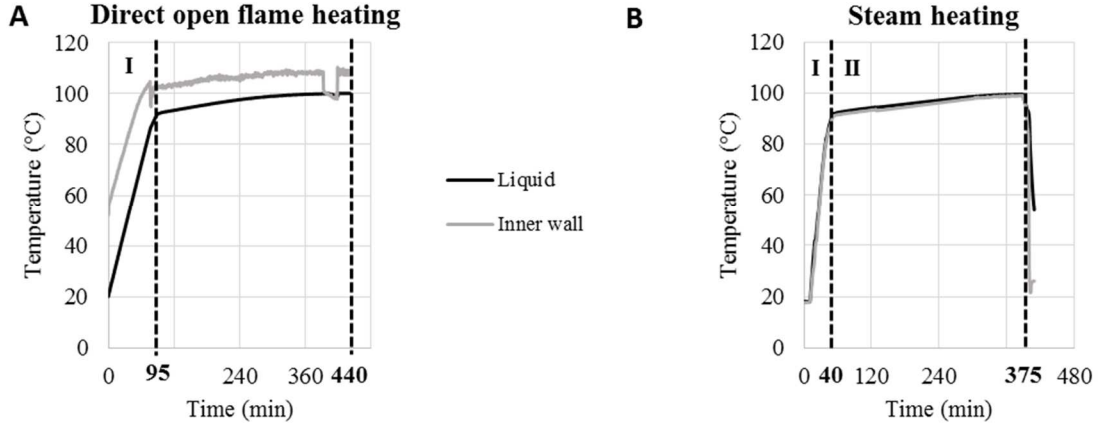


Figure V.2: Comparison of the boiler's inner wall temperature with the wine temperature during wine distillation. A. Direct open flame heating B. Steam heating I. Phase 1 II. Phase 2

Thus, low differences in temperature were observed, leading to the conclusion that the direct open flame heating does not seem to promote the formation of a local hotspot in this trial. This observation could be explained by evaluating the global heat transfer between the open flame and steam heating. The global heat transfer can be assessed by Equation 1.

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_{\text{heating fluid}}} + \frac{1}{\frac{\lambda_{\text{metal}}}{\text{thickness}}} + \frac{1}{h_{\text{liquid}}} \quad [1]$$

where U is the global heat transfer coefficient ($\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$), $h_{\text{heating fluid}}$ is the heat transfer coefficient of the heating fluid ($\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$), λ_{metal} is the thermal conductivity of copper ($\text{W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$) and h_{liquid} is the heat transfer coefficient of the liquid contained in the boiler.

In the case of direct open flame heating, the heat flux is composed of the heat energy coming from radiation and convection. A simplified expression of the heat flux could be used and is described in Equation 2.

$$\dot{q} = (h_{\text{convection}} + h_{\text{radiation}}) (T_1 - T_2) \quad [2]$$

where $\dot{q}$ corresponds to the heat flux density (W.m^{-2}), $h_{\text{convection}}$ and $h_{\text{radiation}}$ are the heat transfer coefficients between the fluid and the wall (expressed in $\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$), T_1 corresponds to the flame temperature and T_2 corresponds to the outer wall temperature in $^{\circ}\text{C}$. Dong *et al.* (Dong et al., 2002) observed a heat flux of 160 kW.m^{-2} for an impinging butane/air flame heating a copper plate. At a steady state, the wall temperature T_2 is considered to be equal to 100°C , corresponding to the measured inner wall temperature as copper is an excellent thermal conductor. Temperature T_1 represents the flame temperature. The flame temperature was not experimentally measured in

our study. However an adiabatic butane/air flame temperature is considered at 1970 °C. The heat transfer coefficient of air due to convection ($h_{\text{convection}}$) is estimated at 40 W.m⁻².K⁻¹. Computing these terms in equation 2 gives an approximate value of heat transfer coefficient due to flame radiation ($h_{\text{radiation}}$) of 45 W.m⁻².K⁻¹. Both heat transfer coefficients have a similar order of magnitude. Moreover, (Baukal and Gebhart, 1997) suggested that the radiative heat flux could be neglected because of its relatively low contribution to the total heat transfer. According to the authors, the boundary layer of a flame jet consists of a chemically reacting region where the flame gases are dissociated to atoms and radicals, which recombined exothermically and homogeneously when they are in contact with the cold copper plate. Hence, this could explain the absence of hotspot observed at the inner wall of the boiler. Moreover, for their calculation procedure and error analysis, (Dong et al., 2002) considered that the enthalpy difference, rather than the temperature difference between the flame and the copper plate, was the driving force for the heat transfer.

V.2.4.2 Results of the conducts of the two modes of distillation

For the direct open flame distillation, **Figure V.2A** indicates that phase I lasted 95 min and phase II lasted 345 min. The total distillation time was 440 min. The distillation produced 22.88 kg of distillate with an alcohol content of 29.5 %v/v. The distillation was stopped when the alcohol content of the flowing distillate reached 3 %v/v. **Table V.1** summarizes these results.

Regarding the ratio between the mass of ethanol retrieved in the distillate and loaded in the boiler, a value of 0.97 (**Table V.2**) was obtained for both distillations, respectively. This indicates that most of these two distillations were conducted in similar conditions and no loss was recorded.

Tableau V.2 : Mass, density, alcohol content of the wine and the distillate for each type of distillation. Distillation parameters (time and gas pressure) are described for each heating.

	Direct open flame heating		Steam heating	
	Wine loaded	Distillate	Wine loaded	Distillate
Mass (kg)	70.69	22.88	70.57	23.4
Density at 20°C (kg/L)	0.9906	0.9628	0.9906	0.9635
Alcohol by volume (%v/v)	9.5	29.5	9.5	29.0
Alcohol by volume (%wt)	7.61	24.2	7.61	23.7
Mass EtOH (kg)	5.37	5.54	5.36	5.55
Distillation yield		0.97		0.97
Distillation time (min)	Phase I	95		40
	Phase II	345		335
	Total	440		375
Gas pressure (mbar)	Phase I	750	P _{steam} = 0.6 bar	
	Phase II	150	P _{steam} = 0.6 bar	

Figure V.2B, representing the steam distillation, shows that phase I lasted 40 min and phase II 335 min for a total distillation time of 375 min. The distillation produced 23.4 kg of distillate with an alcohol content of 29.0 %v/v. The steam distillation was 65 min shorter than the direct open flame distillation. During the steam heating, the heat transfer is more efficient than the distillation induced by flame due to the forced circulation of wine. This translates into a low temperature difference between the condensing vapor and the boiling liquid. At a given liquid flow rate circulating through the heat exchanger, the steam heating allowed a faster rise in temperature and an overall shorter distillation period.

The temperatures of the boiler's inner wall and within the liquid were similar throughout the entire process indicating that the steam heating was homogeneous (**Figure V.2B**). This observation was expected since the heating process takes place in the heat exchanger and not beneath the alembic's boiler. One can assume that the formation of volatile compounds depending on temperature and time might be impeded by the shorter distillation time due to the steam heating.

V.2.4.3 Comparison of the volatile compounds composition between a direct open fire and a steam heating distillate

A mass balance were performed on 45 volatile compounds represented in **Table V.3**. The mass balance compares the initial quantity of a volatile compound quantified in wine with its final quantity after distillation comprising the distillate and stillage. One can observe that the quantity of a volatile compound that increases upon the direct open flame distillation will increase as well

Table V.3: Mass of volatile compounds found in the wine before distillation and after completion of the open flame and steam heating. Δ mass = mass after heating – mass before heating

ALCOHOLS	Open flame distillation			Steam distillation		
	Mass before (mg)	Mass after (mg)	Δ Mass (mg)	Mass before (mg)	Mass after (mg)	Δ Mass (mg)
Methanol ¹	2336 ± 4	2322 ± 10	-14 ± 11	2308 ± 37	2264 ± 13	-44 ± 40
Propanol ¹	2512 ± 22	2461 ± 17	-51 ± 28	2479 ± 58	2461 ± 10	-18 ± 59
Isobutanol ¹	5152 ± 63	5048 ± 35	-104 ± 72	5124 ± 198	5050 ± 21	-74 ± 199
1-butanol ¹	22.6 ± 0.5	22.2 ± 1.6	-0.4 ± 1.7	23.1 ± 1.4	19.6 ± 1.2	-3.5 ± 1.9
2-methylbutan-1-ol ¹	3066 ± 42	3010 ± 19	-56 ± 46	3048 ± 119	3016 ± 12	-32 ± 120
3-methylbutan-1-ol ¹	12902 ± 168	12642 ± 78	260 ± 185	12803 ± 462	12670 ± 48	-133 ± 465
1-hexanol ¹	97.3 ± 1.5	96.5 ± 0.7	-0.8 ± 1.7	95.7 ± 3.5	95.9 ± 1.5	0.2 ± 3.8
Phenyl-2-ethanol ¹	1435 ± 7	1389 ± 26	-46 ± 27	1400 ± 9	1336 ± 52	-64 ± 53
<i>Trans</i> -3-hexen-1-ol ²	0.41 ± 1.8E-2	0.40 ± 0.1	0.01 ± 0.1	0.45 ± 1.7E-2	0.45 ± 1.4E-2	0 ± 2.2E-2
<i>Cis</i> -3-hexen-1-ol ²	18.1 ± 1.0	17.4 ± 0.7	-0.7 ± 1.2	12.4 ± 0.4	14.8 ± 0.6	2.4 ± 0.7
ESTERS						
Ethyl formate ¹	0 ± 0	20.3 ± 5.8	20.3 ± 5.8	0 ± 0	21.1 ± 1.0	21.1 ± 1.0
Ethyl butyrate ¹	12.6 ± 1.0	12.9 ± 1.17	0.3 ± 1.6	13.0 ± 1.3	13.0 ± 1.4	0.0 ± 2.0
Isoamyl acetate ¹	41.2 ± 3.1	41.3 ± 0.6	0.1 ± 3.2	39.4 ± 5.1	39.8 ± 2.7	0.4 ± 5.8
Ethyl hexanoate ¹	36.7 ± 0.6	35.1 ± 1.1	-1.6 ± 1.3	37.2 ± 3.3	36.1 ± 1.6	-1.1 ± 3.7
Ethyl lactate ¹	12446 ± 95	9902 ± 88	-2544 ± 130	12031 ± 101	10421 ± 59	-1610 ± 117
Ethyl octanoate ¹	73.7 ± 3.1	67.2 ± 3.6	-6.5 ± 4.8	80.2 ± 5.4	69.4 ± 1.1	-10.8 ± 5.5
Ethyl laurate ¹	10.0 ± 1.6	40.7 ± 2.0	30.7 ± 2.5	10.8 ± 0.4	34.3 ± 2.0	23.5 ± 2.1
ALDEHYDES						
Isobutanal ¹	0 ± 0	82.6 ± 14.9	82.6 ± 14.9	0 ± 0	60.6 ± 2.2	60.6 ± 2.2
Furfural ¹	0 ± 0	64.7 ± 1.6	64.7 ± 1.6	0 ± 0	74.5 ± 4.8	74.5 ± 4.8
2-methylbutanal ³	0 ± 0	10.9 ± 0.9	10.9 ± 0.9	0 ± 0	10.8 ± 1.5	10.8 ± 1.5
3-methylbutanal ³	2.7 ± 0.9	13.3 ± 2.1	10.6 ± 2.2	1.73 ± 0.3	12.78 ± 2.4	11.05 ± 2.4
Butanal ³	0.17 ± 3.1E-2	0.27 ± 2.4E-2	0.1 ± 4.0E-2	0.16 ± 3.0E-2	0.24 ± 2.8E-2	8.0E-2 ± 4.1E-2
Pentanal ³	0.49 ± 4.6E-2	0.58 ± 4.1E-2	9.0E-2 ± 6.1E-2	0.41 ± 0.2	0.58 ± 3.6E-2	0.17 ± 0.2
NORISOPRENOIDS						
Vitispiranes 1 ²	0 ± 0	0.61 ± 2.8E-2	0.61 ± 2.8E-2	0 ± 0	0.70 ± 1.0E-2	0.70 ± 1.0E-2
Vitispiranes 2 ²	0 ± 0	0.56 ± 1.0E-2	0.56 ± 1.0E-2	0 ± 0	0.62 ± 1.0E-2	0.62 ± 1.0E-2
Riesling acetal ²	0 ± 0	0.36 ± 1.0E-2	0.36 ± 1.0E-2	0 ± 0	0.36 ± 1.4E-2	0.36 ± 1.4E-2
1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene (TDN) ²	0 ± 0	1.0 ± 5.0E-2	1.0 ± 5.0E-2	0 ± 0	2.37 ± 7.8E-2	2.37 ± 7.8E-2
β -damascenone ²	0.43 ± 1.9E-2	1.16 ± 1.0E-2	0.73 ± 2.0E-2	0.39 ± 1.5E-2	1.08 ± 2.8E-2	0.69 ± 3.7E-2
Actinidol ²	0 ± 0	2.87 ± 3.0E-2	2.87 ± 3.0E-2	0 ± 0	1.88 ± 3.7E-2	1.88 ± 3.7E-2
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one (TMPBA) ²	0 ± 0	0.60 ± 1.0E-2	0.60 ± 1.0E-2	0 ± 0	0.53 ± 1.7E-2	0.53 ± 1.7E-2
4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (TMPBE) ²	0 ± 0	3.48 ± 0.11	3.48 ± 0.11	0 ± 0	1.45 ± 8.7E-2	1.45 ± 8.7E-2
TERPENES						
Linalool ²	0.67 ± 3.0E-2	0.67 ± 5.0E-2	0 ± 6.0E-2	0.59 ± 1.6E-2	0.70 ± 0.14	0.11 ± 0.14
Hotrienol ²	0 ± 0	2.26 ± 4.9E-2	2.26 ± 4.9E-2	0 ± 0	2.41 ± 9.2E-2	2.41 ± 9.2E-2
Myrcenol ²	0 ± 0	1.0 ± 2.8E-2	1.0 ± 2.8E-2	0 ± 0	0.87 ± 1.8E-2	0.87 ± 1.8E-2
α -terpineol ²	0.34 ± 2.1E-2	1.15 ± 2.9E-2	0.81 ± 3.6E-2	0.30 ± 4.4E-2	1.02 ± 4.9E-2	0.72 ± 4.9E-2
β -citronellol ²	0.30 ± 2.2E-2	0.37 ± 6.3E-3	0.07 ± 2.3E-2	0.32 ± 4.6E-3	0.43 ± 1.7E-2	0.11 ± 1.8E-2

upon steam heating. The difference between the two modes of heating is only quantitative. **Table V.3** shows that the quantities of alcohols remain stable during both distillations. Most of quantities of ethyl esters remain steady as well and are not influenced by the distillation process. Thus, only the compounds showing a difference in quantity according to the type of heating will be discussed.

V.2.4.3.1 Formation of esters

Figure V.3 displays two esters, ethyl formate and ethyl laurate having ethereal and waxy notes respectively. No ethyl formate was detected in wine while 20 mg were quantified after the steam and direct open flame distillation. Ethyl formate seems to be generated exclusively from distillation. However, the type of heating does not seem to impact the quantities of ethyl formate generated. The quantity of ethyl laurate increases by about three folds for the steam and by four folds for the direct open flame distillation. After distillation, most of esters are found entirely in the distillate fraction. These observations are in accordance with what was observed during a traditional batch distillation of cognac spirits (Awad et al., 2017).

V.2.4.3.2 Formation of aldehydes

According to **Figure V.3** isobutanal, furfural, 2-methylbutanal and 3-methylbutanal are formed throughout the two wine distillations. Isobutanal, having a slight apple note (Lambrechts and Pretorius, 2000), was quantified at 61 mg after the steam distillation and 74 mg after the direct open flame distillation. The open flame heating promotes the generation of isobutanal in comparison of the steam heating. This trend was expected because isobutanal is a compound formed from the Strecker degradation (Galy et al., 2008). Hence, a high temperature fosters the

formation of isobutanol. The low temperature gap between the inner wall and the wine hardly justify the differences noted. Another factor could be at play: time. Indeed, steam heating being 65 min shorter, the Strecker degradation had less time to take place in comparison to the direct open flame distillations.

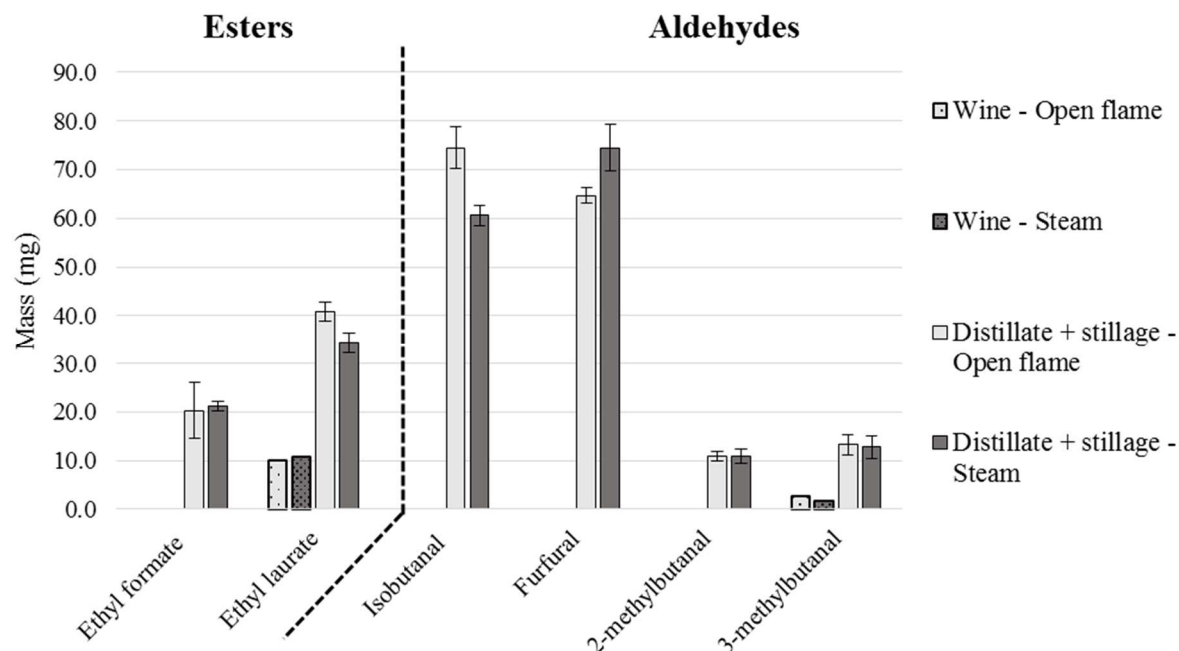


Figure V.3: Overall mass balance on esters and aldehydes established before and after distillation according to the type of heating.

Furfural was found in relatively high quantities after the two distillations whereas it was not detected in wine prior to distillation. **Figure V.3** shows that similar quantities of around 75 mg were found after the steam distillation. 65 mg of furfural was quantified after the direct open flame distillation. The dehydration of pentoses is at the origin of the formation of furfural and is a heat sensitive reaction (Ledauphin et al., 2006; Danon et al., 2014). A difference in furfural quantity between the open flame and steam heating does not seem to be proportional to time. **Table V.4** shows that furfural does not distillate well during the open flame and steam distillation where 65 % and 74 % of furfural were quantified in the distillate fraction, respectively. Similarly to isobutanol, furfural was previously found to be exclusively present in the distillate after a traditional wine distillation (Awad et al., 2017).

2-methylbutanal was quantified at 11 mg after the steam and direct open flame distillations. The duration of distillation does not seem to impact the generation of 2-methylbutanal as the same amount of this compound was found after the steam and direct open flame distillation that have different duration of distillation. However, the type of heating does not seem to impact the generation of 2-methylbutanal. For 3-methylbutanal, about 12 mg were quantified in the distillate

for both heatings. The generation of this compound is not impacted neither by the type of heating, nor by the distillation time. The Strecker degradation, responsible for the generation

Tableau V.4: Repartition of aldehydes and terpenes for every fractions at the end of the distillation according to the type of heating. Values of concentration are given as mean $\pm$ SD. The percentage value is obtained by: mass of volatile compound in given fraction / total mass of volatile compound in all fractions.

	Direct open flame heating				Steam heating			
	Distillate Concentration (mg/L)	%	Stillage Concentration (mg/L)	%	Distillate Concentration (mg/L)	%	Stillage Concentration (mg/L)	%
ALDEHYDES								
Isobutanal	2.9 $\pm$ 0.2	85.0	3.0E-1 $\pm$ 0.3	15.0	2.5 $\pm$ 9E-2	100.0	N.D.	0.0
Furfural	2.1 $\pm$ 5E-2	77.2	3.1E-1 $\pm$ 3E-2	22.8	2.3 $\pm$ 0.2	74.4	4.2E-1 $\pm$ 6E-2	25.6
2-methylbutanal	9.1E-1 $\pm$ 3E-2	100.0	N.D.	0.0	8.9E-1 $\pm$ 2E-2	100.0	N.D.	0.0
3-methylbutanal	9.9E-1 $\pm$ 1E-2	88.1	6.7E-2 $\pm$ 4E-2	11.9	1.0 $\pm$ 1.4E-2	$\approx$ 98.0	<LOQ	2.0
NORISOPRENOIDS								
Actinidol	8.1E-2 $\pm$ 1E-3	66.2	2.1E-2 $\pm$ 0	33.8	7.7E-2 $\pm$ 2E-3	$\approx$ 97.0	<LOQ	
β -damascenone	4.5E-2 $\pm$ 0	92.0	2.0E-3 $\pm$ 2E-4	8.0	4.4E-2 $\pm$ 1E-3	100.0	N.D.	0.0
Riesling acetal	1.5E-2 $\pm$ 0	$\approx$ 94.0	<LOQ		1.5E-2 $\pm$ 6E-4	100.0	N.D.	0.0
TDN	3.1E-2 $\pm$ 2E-3	73.6	5.6E-3 $\pm$ 8E-4	26.4	9.4E-2 $\pm$ 3E-3	100.0	N.D.	0.0
TMPBA	1.7E-2 $\pm$ 4E-4	66.6	4.2E-3 $\pm$ 6E-5	32.6	1.8E-2 $\pm$ 5E-4	83.9	1.8E-3 $\pm$ 3E-4	16.1
TMPBE	5.0E-2 $\pm$ 1E-3	33.4	5.0E-2 $\pm$ 2E-3	67.4	3.6E-2 $\pm$ 1E-3	59.3	1.4E-2 $\pm$ 2E-3	40.7
Vitispirane 1	2.6E-2 $\pm$ 1E-3	98.5	2.0E-4 $\pm$ 9E-5	1.5	2.9E-2 $\pm$ 6E-4	100.0	N.D.	0.0
Vitispirane 2	2.6E-2 $\pm$ 1E-3	98.7	1.5E-4 $\pm$ 0	1.3	2.5E-2 $\pm$ 6E-4	100.0	N.D.	0.0
TERPENES								
α -terpineol	4.4E-2 $\pm$ 1E-3	95.3	2.2E-3 $\pm$ 3E-4	4.7	4.1E-2 $\pm$ 2E-3	99.0	4E-4 $\pm$ 7E-4	1.0
Hotrienol	9.4E-2 $\pm$ 2E-3	99.2	7.1E-4 $\pm$ 5E-5	0.8	9.9E-2 $\pm$ 4E-3	100.0	ND	0.0
Myrcenol	3.3E-2 $\pm$ 1E-3	85.5	5.6E-3 $\pm$ 2E-4	14.5	3.4E-2 $\pm$ 1E-3	96.5	1.2E-3 $\pm$ 2E-4	3.5

of 2- and 3-methylbutanal (Franitza et al., 2016), is a thermal dependent reaction. The fact that similar amounts of these compounds being found in both distillates corroborate the observation of absence of hotspots on the inner wall during the open flame heating. Moreover, the partitioning of 2- and 3-methylbutanal is similar during both distillations: they are found entirely in the distillate fraction and none were detected in the stillage.

V.2.4.3.3 *Formation of norisoprenoids*

Figure V.4 shows that eight norisoprenoids are formed during the two mode of distillations. Actinidol, while not detected in wine, is quantified at 3.9 and 2.5 mg after the open flame and steam heating, respectively. Moreover, the quantity of actinidol formed throughout the two distillations is not proportional to the duration of the distillation process. The results suggest that the open flame heating favors the formation of actinidol. Despite the absence of a proposed mechanism for the formation of actinidol, it is inferred that glycosylated megastigmatriol structures are involved in its formation (Strauss et al., 1986). Thus, it is supposed that the open flame heating allows a better deglycosylation of the precursors responsible for the formation of

actinidol than steam heating.

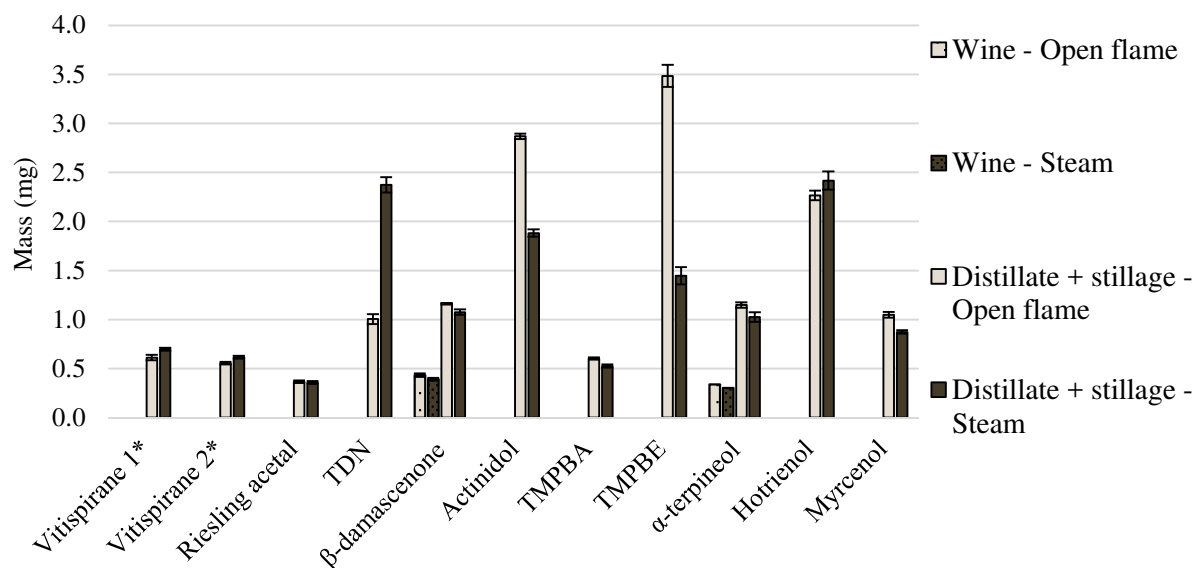


Figure V.4: Overall mass balance on norisoprenoids established before and after distillation according to the type of heating. *Isomerism not defined

β -damascenone was detected at 0.4 mg in the wine and about 1 mg after both distillations. The presence of β -damascenone in the wine is due to the degradation of the carotenoids during the grape ripening and the fermentation (Mendes-Pinto, 2009). Also, Sefton et al. (2011) mentioned the fact that the injection of samples containing the damascenone precursor (allenic triol) into an improperly conditioned GC can result in its decomposition to form damascenone and other products in the injector block. This might explain the high quantity of β -damascenone found in wine. Glycosylated precursors of β -damascenone are present in the wine as well (Kotseridis et al., 1999) and could explain the augmentation of β -damascenone after the distillation process. The relative similarity in quantities of β -damascenone after the two distillations suggests that most of the precursors responsible for its formation have reacted.

Riesling acetal, and vitispiranes 1 and 2 follow the same trend than β -damascenone, beside the fact that no vitispiranes nor riesling acetal were detected in wine prior to distillation. Thus, after distillation, the quantities of these compounds increased to reach a similar value for the two modes of heating. As seen for β -damascenone, the similarity in amounts of Riesling acetal and vitispiranes between both distillations indicates that most of the precursors responsible for their formation have reacted, and one can infer that the mode of heating does not have an influence regarding their generation.

1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN), having a kerosene note (Sacks et al., 2012), was not detected in wine and was completely formed during distillation. The amounts of TDN quantified after the distillations display a different profile in comparison of the other norisoprenoids. About 1.0 and 2.4 mg have been formed at the end of the direct open flame and steam heating respectively. Yet, as stated in our previous work, the fact that TDN shows a different pattern than the other norisoprenoids emphasizes the various type of precursors responsible for its formation (Strauss et al., 1987). However, no particular reaction pathway is clearly known to take place during distillation. The point that could be acknowledged is that steam heating seems to promote the formation of TDN in comparison to the open flame heating.

4-(2,3,6-trimethylphenyl)-butan-2-one (TMPBA) and 4-(2,3,6-trimethylphenyl)-3-buten-2-one (TMPBE) present a similar trend where the lowest amounts of these two compounds are found at the end of the steam distillation. TMPBA and TMPBE were not found in wine before the distillation, whereas amounts of 0.5 and 1.4 mg after steam distillation were found for TMPBA and TMPBE respectively. The direct open flame distillation provided 0.6 and 3.5 mg of TMPBA and TMPBE upon completion of the process. Also, the formation of TMPBA and TMPBE seems to be time dependent. According to **Table V.4**, most of norisoprenoids generated are found in the distillate fraction upon the end of each distillation. One can observe that the steam heating favors the passage of norisoprenoids into the distillate in comparison to the open flame type of heating.

V.2.4.3.4 *Formation of terpenes*

After the distillation process, α -terpineol, hotrienol and myrcenol were generated. This observation is in accordance with our previous study (Awad et al., 2017). **Figure V.5** shows that, overall, these compounds were only slightly influenced by the type of heating.

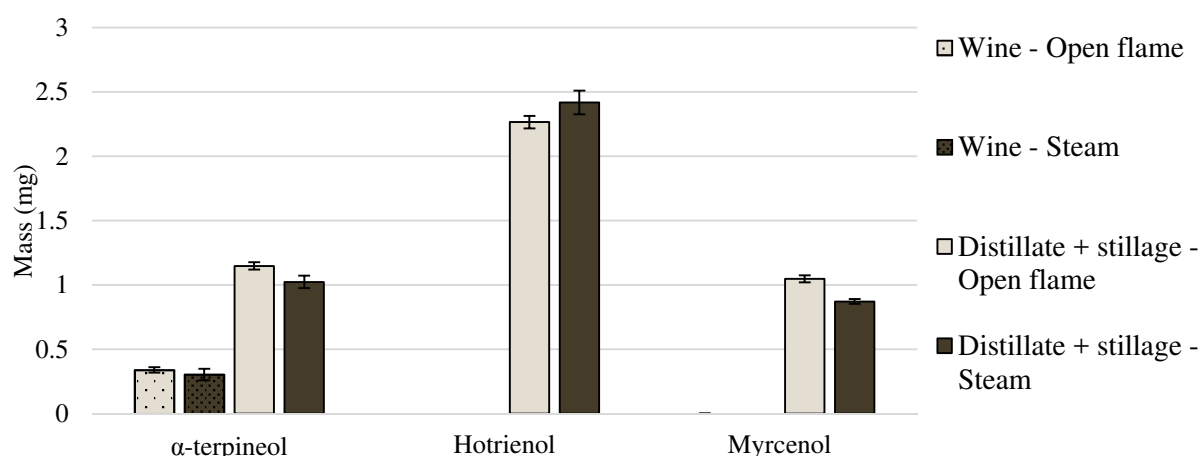


Figure V.5: Overall mass balance on terpenes established before and after distillation according to the type of heating.

Amount of α -terpineol was three times higher after the process than in the wine, increasing from 0.35 mg to about 1 mg. No difference was observed between the steam and direct open flame heating, where α -terpineol was quantified at about 1 mg at the end of these two distillations. However this difference would hardly be perceived in a sensory way.

Hotrienol was not detected in the wine and was quantified in both heatings at similar amounts (about 2.3 mg). This suggests that hotrienol was not impacted by the mode of heating. The hypothesis that hotrienol could be formed from (E)-2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol under acidic conditions has been proposed (Etoh et al., 1980; Williams et al., 1980). Also, Wintoich et al. (1993) characterized the glycoconjugate of (E)-2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol as a natural precursor of hotrienol from lulo fruit peelings. Myrcenol, not present in wine, was found at 0.9 and 1.0 mg after the steam and direct open flame distillation respectively. These results corroborate the data shown by Williams et al. (1980) where a grape juice (pH 3.2) placed at 70 °C for 15 min produced myrcenol. The formation of myrcenol seems to be dependent of the duration of the distillation process. Terpenes formed during distillation are suspected to be coming from their respective glycosylated precursors, as they are highly present in wines (Williams et al., 1980; Günata et al., 1985; Awad et al., 2017). According to the results presented, it would seem that the glycosylated precursors of α -terpineol and hotrienol have completely reacted and would explain the similarity in amounts of these two terpenes upon the end of the distillation. By following the same reasoning, one can presume that the glycosylated precursors of myrcenol have not completely reacted, explaining the myrcenol's profile displayed on **Figure V.5**. **Table V.4** shows that these three terpenes are mostly present in the distillate fraction. Moreover, the steam distillation promotes more efficiently the passage of terpenes into the distillate fraction in comparison to the open flame distillation.

V.2.5 Conclusions

The small scale 70 L pot still mounted on a gas burner and on a steam generator allowed to conduct two distillations using two modes of heating that produced two distillates with a similar alcohol content. The thermocouple placed against the inner wall of the alembic allowed to determine that no local hotspots, that could promote thermal dependent reactions, were present during the direct open flame heating. The mass balance performed on volatile compounds allowed to assess the impact of the mode of heating on their formation. In total, two esters, seven carbonyls, three terpenes and nine norisoprenoids were formed throughout the two distillations. In general, a volatile compound generated during distillation was formed at comparable amounts for the two modes of heating. This points out that, despite some slight differences, the 2 modes of heating tested here have a minor impact regarding the formation of volatile compounds.

V.2.6 Points à retenir

Les bilans de matière ont montrés qu'il existait peu de différences quant à la formation en composés volatils entre les deux distillats issus des deux types de chauffage.

L'étude montre que, contrairement à ce que l'on pensait, il ne semble pas y avoir de points chauds lors d'une distillation à feu nu à l'échelle pilote.

Les bilans de matière effectués sur les deux chauffes ont montré que les composés volatils formés au cours des deux chauffes étaient les mêmes que ceux observés lors d'une distillation charentaise classique (IV.2.7).

VI. ETUDE DE L'HYDROLYSE ACIDE DE L' α -TERPENYL- β -GLUCOPYRANOSIDE DANS DES CONDITIONS DE DISTILLATION

VI.1 Contexte et objectifs

Nous avons vu précédemment que de nombreux composés volatils, de nature différente, étaient formés au cours de la première distillation. A partir de ce constat, il s'agissait de sélectionner une molécule afin de suivre sa réaction de formation. En recoupant plusieurs études au sein de la littérature scientifique, la principale voie de formation des composés volatils pendant la distillation semblerait être l'hydrolyse de leur précurseur glycosylé présent dans le vin. En effet, il a été montré que la part de terpènes glycosylés est deux à huit fois plus importante par rapport à leurs homologues libres (Günata et al., 1985). Le choix de la molécule s'est alors porté sur l' α -terpineol car ce composé est disponible dans le commerce facilitant ainsi son analyse pour le suivi de sa formation à partir de son précurseur l' α -terpenyl- β -glucopyranoside qui sera également appelé α -terpenyl dans cette étude.

L'objectif de cette étude était de déterminer la vitesse de dégradation de l' α -terpenyl ainsi que l'influence de la teneur en éthanol sur celle-ci. Pour ce faire, une quantité connue d' α -terpenyl a été ajoutée dans une solution modèle à pH = 3,3, aqueuse ou à 10 % v/v d'éthanol. La solution fut ensuite placée dans un réacteur sous pression et portée à 100 °C. Par ailleurs, un système de prélèvements fut installé sur le réacteur afin de suivre la dégradation de l' α -terpenyl au cours du temps. Il s'agissait de suivre l'évolution de la concentration en α -terpenyl par dosage en UHPLC-MS puis celles de l' α -terpineol et de ses produits de dégradation en GC-MS.

L'étude qui est présentée ici est une ébauche d'article. Certains points nécessitent d'être complétés par un travail expérimental supplémentaire avant soumission aux éditeurs.

VI.2 Study of the hydrolysis of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside in distillation conditions

Pierre Awad^{a,b}, Stéphanie Roux^b, Violaine Athès^a and Pierre Giampaoli^b

^a UMR 782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 78330 Thiverval-Grignon, France

^b UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 91300 Massy, France

Cet article est à compléter avant soumission aux éditeurs

VI.2.1 Introduction

Several volatile compounds are formed during the distillation of cognac spirit (Awad et al., 2017). In particular, the quantities of α -terpineol, hotrienol and myrcenol were found to have increased after the distillation process. It was suggested that these terpenes could be formed from the acidic hydrolysis of glycosidically bound terpenes present in wine prior to the process (Marais, 1983; Günata et al., 1985; Rapp and Mandery, 1986; Maicas and Mateo, 2005; Loscos et al., 2007; Dziadas and Jeleń, 2016). Indeed, upon hydrolysis, the aglycon is liberated in the wine, and becomes sensorially active (Sefton et al., 1994).

Moreover, norisoprenoid compounds possess a similar type of precursor (Maicas and Mateo, 2005; Daniel et al., 2008; Mendes-Pinto, 2009). Since terpenes are rather hydrophobic, they tend to bound to a glucosyl to increase their hydrophilicity. Hence, the concentration of glycosidically bound terpenes is much higher than their free counterparts. Günata et al. (1985) showed that Muscat of Alexandria grape juice contained 1510 $\mu\text{g/L}$ total free terpenes compared to 4030 $\mu\text{g/L}$ of glycosylated terpene. Also, studies have shown that glycosidically bound terpenes can be hydrolyzed at pH 3.0 to form free terpenes (Williams et al., 1982b; Sarry and Günata, 2004). This pH corresponds to that of the wine used for cognac spirit distillation (Léauté, 1990; Awad et al., 2017). Moreover, Ohta et al. (1991) have shown that geranyl- β -glucoside and neryl- β -glucoside could both form linalool and α -terpineol in a model shochu solution at 15 % v/v of ethanol and pH 3.8, heated at 100 °C for 1 hour. According to the authors, the formation of linalool from the hydrolysis of geranyl- β -glucopyranoside follows a first-order reaction.

Skouroumounis and Sefton (2000) studied the acid hydrolysis products of selected terpene glycosides through gas chromatography. Data showed that the major product was 2,2,6-trimethyl-2-vinyl tetrahydropyran (linaloyl oxide) for the hydrolysis of both geraniol and geranyl- β -glucoside. Dziadas and Jeleń, (2016) have compared the quantity of several terpenes after an enzymatic and acid hydrolysis taking place in Gewurztraminer grape musts. The study showed that the quantities of terpenes were 2.6 times higher after the acid hydrolysis in comparison to the enzymatic hydrolysis. Hence, the acid hydrolysis tends to promote the liberation of glycosylated terpenes. According to Maicas and Mateo (2005), the presence of volatile compounds such as α -terpineol, β -terpineol and myrcenol in cognac could also come from the hydrolytic degradation of grape monoterpene glycosides during wine distillation. However, after an enzymatic (Günata et al., 1990; Sarry et Günata, 2004) or thermal hydrolysis (Ohta et al., 1991), most research focus on the reaction products. The kinetics of heat induced acid hydrolysis of glycosylated terpenes present in wine during distillation have not been studied.

The aim of this work was to follow the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside in reaction conditions close to distillation and to assess the influence of ethanol on the hydrolysis. This compound was chosen because its direct aglycon (α -terpineol) was found to be generated upon the distillation process during a traditional charentaise distillation (Awad et al., 2017) as well as upon direct open flame and steam heating performed in a small-scale alambic. Also, α -terpineol is a commercially available compound which facilitates its quantification.

The literature suggests that, placed in acidic conditions, the α -terpenyl- β -glucopyranoside undergoes an acid catalyzed hydrolysis (Williams et al., 1982a; Skouroumounis and Sefton, 2000; Maicas and Mateo, 2005) as depicted in **Figure VI.1**. This results in the formation of α -terpineol. Rapp and Mandery (1986) showed that, once liberated from their glycoside, terpenes placed in acidic conditions are further oxidized (Baxter et al., 1978). In our case, α -terpenyl- β -glucopyranoside (G- α T) would be hydrolyzed during a first reaction to β -glucopyranoside (G) and α -terpineol (α T). α T would then be further oxidized in 4-(2-hydroxypropan-2-yl)-1-methylcyclohexan-1-ol (T1) and 4-(2-hydroxypropan-2-yl)-1-methylcyclohexan-2-ol (T2) via two parallel reactions. These T1 and T2 compounds are expected to be final reaction products (**Figure VI.2**).

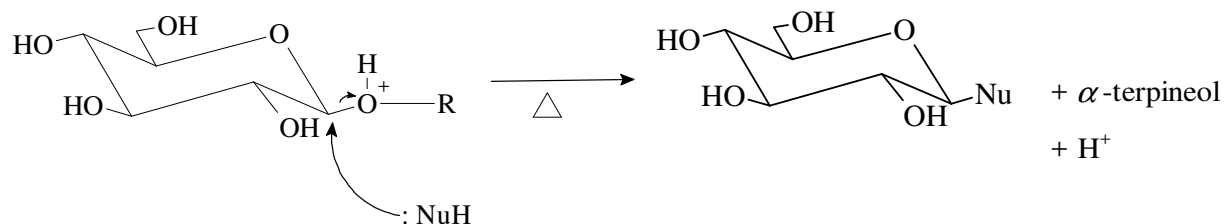


Figure VI.1: Mechanism of the acid hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside. NuH = HO or $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$. R = $\text{C}_{10}\text{H}_{17}$

The G- α T degradation was followed in two model solutions. The first solution contained 10 % v/v of ethanol to be representative to a typical wine to be distilled. The second model solution was aqueous in order to correspond to the stillage fraction after completion of the process. The solutions were placed in a reactor where pH and temperature were controlled. The degradation of α -terpenyl- β -glucopyranoside was monitored through UPLC-QTOF-MS and the reaction products were quantified by GC-MS.

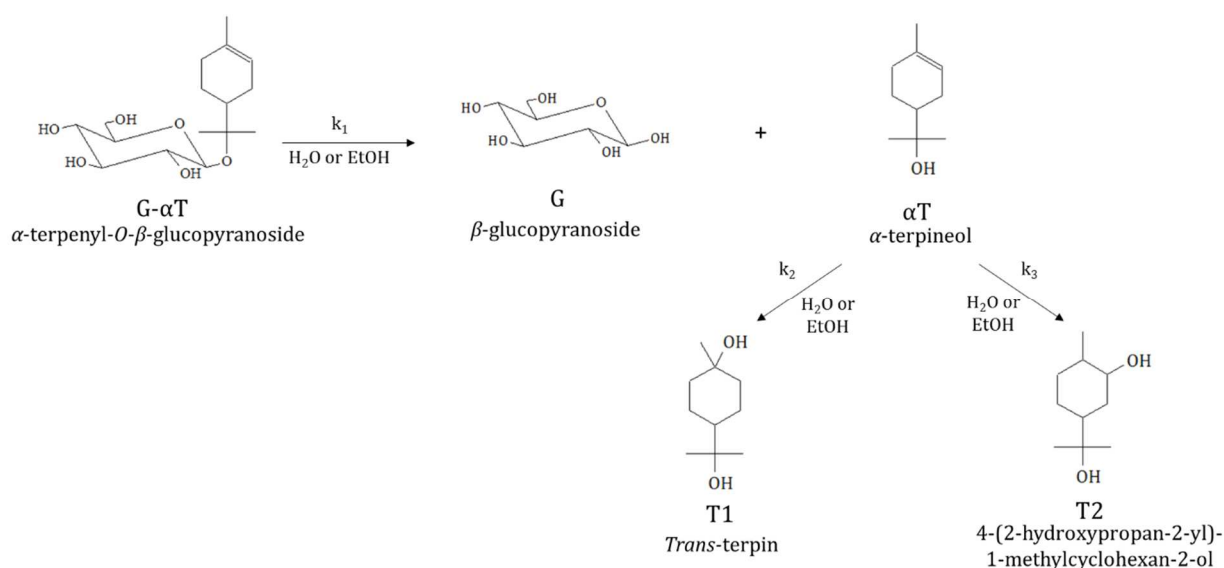


Figure VI.2: Proposed reaction pathway for the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside

VI.2.2 Material and methods

VI.2.2.1 Chemicals and reagents

α -terpenyl- β -glucopyranoside (racemic; > 98 % of purity) was synthesized by Flowchem (Mazeres, France). α -terpineol, *trans*-terpin, ammonium formate and dodecyl-glucopyranoside were purchased from Sigma-Aldrich. All compounds were > 98 % of purity. Absolute ethanol comes from VWR. Formic acid, methanol, water (with 0.1 % formic acid), all LC/MS grade were purchased from Carlo Erba.

VI.2.2.2 Experimental protocol for α -terpenyl- β -glucopyranoside hydrolysis

1 mM of α -terpenyl- β -glucopyranoside was dissolved in 100 mL of model solution containing either 10 % v/v of ethanol or aqueous solution, both having their pH fixed at 3.3 (formate buffer 0.1 M). The solution was placed in a reactor system EasyMax™ 102 (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) represented on **Figure VI.3**. To start the kinetic study, the temperature of the solution was raised at 100 ± 0.05 °C in 20 min and maintained for a subsequent 380 min, all under continuous agitation (500 rpm). The sampling device allowed to uptake about 2 mL of sample every 30 minutes during the reaction time, additional 2 mL were previously taken to ensure the evacuation of the pipe's residual liquid. The sample was rapidly cooled in an ice bath and filtered on a 0.2 μ m nylon syringe filter before being stored at -17 °C until analysis. The experiment was run in triplicate for each model solution.

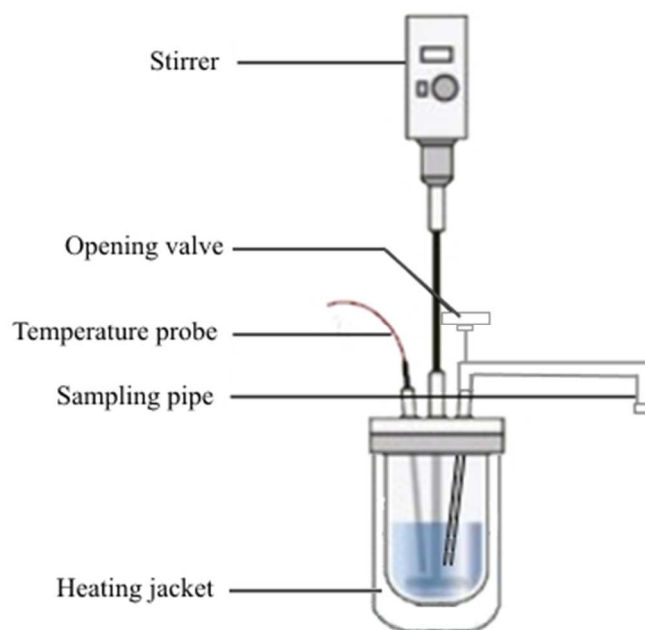


Figure VI.3: Reactor used to carry on the hydrolysis reactions of α -terpenyl- α - β -glucopyranoside.

VI.2.2.3 Analysis of α -terpenyl- α - β -glucopyranoside by UHPLC/MS-ToF

VI.2.2.3.1 Sample preparation

The concentration of α -terpenyl- α - β -glucopyranoside was quantified by UPLC-MS-TOF. Prior to injection, all samples were diluted 1:1000 in an ethanol/water (10 %v/v) solution. 5 μ L of dodecyl-glucopyranoside (1.5 mM) was added into the solution as internal standard. The solution was then injected to the UHPLC-TOF-MS for analysis.

VI.2.2.3.2 Instrumentation and chromatographic conditions

Analyses have been performed on a Waters® Acquity H-Class UPLC® system, composed of a quaternary solvent manager pump (QSM), a refrigerated sample manager Flow-Through-Needle (SM-FTN) and a column oven, coupled to a Waters® high resolution mass spectrometer with a Time of Flight analyzer, Xevo® G2-S ToF (UHPLC/MS-ToF). The analytical column was an Acquity BEH C18 column (100 mm $\times$ 2.1 mm, diameter of particles: 1.7 μ m). MassLynx™ software version 4.1 (Waters, Milford, MA, USA) was used to control the instruments as well as acquiring and processing data. Chromatographic separation conditions were adapted from Oppliger et al. (2014), by using a gradient separation mode. The mobile phase was composed of: methanol + 0.1% Formic acid (FA) (Solvent A) and water + 0.1% FA (Solvent B). The gradient started at 70% A for 5 min and reached 95 % A in 0.5 min held for 5.5 min. Then, solvent A was raised to 100 % in 0.5 min and was decreased to 70 % in 0.5 min for 5 min with a total run duration of 17 min. The column was thermostated at 30 °C and the sample temperature was set at 10 °C.

VI.2.2.3.3 MS parameters

The source used for ionization was the ElectroSpray Ionisation (ESI). Analyzes were run in positive mode (ESI⁺). The voltages of capillary, sample cone, and extraction cone were set at 3000, 60, and 4 V, respectively. The desolvation gas flow rate was 900 L/h at 550 °C. Source temperature was 130 °C. Cone gas flow was 10 L/h. All analyzes were done using the resolution mode for a scan time of 0.5 s, with mass range between 50 and 800 m/z and data acquired in centroid. Internal calibration of ToF analyzer was performed with a continuous flow at 5 μ L/min of Leucine Enkephalin.

VI.2.2.3.4 Quantification

A five point calibration curve of α -terpenyl- O - β -glucopyranoside in 10 % v/v ethanol was determined at the following levels: 19.7, 98.3, 191.1, 984.2, and 1985.0 nM, each measured in triplicate with an injection volume of 10 μ L. The calibration curve equation was $y = 0.7378x + 0.0076$ with $R^2 = 0.9958$.

The peak area of each compound has been measured by extracting all the chromatograms at the m/z ratio of the most abundant ion which are, for α -terpenyl- O - β -glucopyranoside, $[M+Na]^+ = 339.1778$, and for dodecyl-glucopyranoside, $[M+Na]^+ = 371.2404$.

The limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ), defined as 3 and 10 times the noise signal in the region of the terpenyl glycoside in the chromatogram, were found at 4.34 μ M and 14.45 μ M respectively. Each sample was measured in triplicate.

VI.2.2.4 Analysis of reaction products by GC-MS

VI.2.2.4.1 Sample preparation

GC-MS was used to quantify the terpenes formed during the hydrolysis of α -terpenyl- O - β -glucopyranoside. Prior to injection, all samples were diluted 1:5 with water/ethanol (10 % v/v) solution. 5 μ L of terpinen-4-ol (180 mM) in absolute ethanol was added into the solution as internal standard. The solution was then injected to the GC-MS for analysis.

VI.2.2.4.2 Instrumentation and chromatographic conditions

An Ultratrace gas chromatograph from Thermo Scientific, equipped with a split/splitless injector (250 °C with an auto-sampler Triplus® from Thermo Scientific, Villebon-sur-Yvette, France) was used. The carrier gas was helium with a flow rate of 1.4 mL/min. A ZB-Wax fused silica column (60 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m from Phenomenex, Le Pecq, France) was used in a splitless mode. The sample volume injected was 1 μ L and the oven temperature program was the following: 40 °C,

raised at 80 °C/min to 100 °C, raised at 4 °C/min to 180 °C, raised at 80 °C/min to 240 °C and then held for 10 min. The identification of α -terpineol and *trans*-terpin were performed by comparing their retention time to that of their pure standards and comparison of their mass spectra with that of the reference compound. The ISQ mass spectrometer detector (Thermo Scientific) was used in scan mode (m/z 30-300 uma; 5 scans/sec) and Single Ion Monitoring (SIM) mode with an ionization voltage of 70 eV. The temperature of the ion source was set at 200 °C.

VI.2.2.4.3 Quantification

Five points calibration curves of α -terpineol and *trans*-terpin in 10 % v/v ethanol were determined at the following levels: 13.3, 36.3, 68.0, 145.0, 323.8 μ M (LOD = 0.8 μ M; LOQ = 2.6 μ M) and 20.0, 48.0, 97.0, 196.0 466 μ M (LOD = 0.2 μ M; LOQ = 0.8 μ M) respectively. Each point was prepared in triplicate. The calibration curve equation for α -terpineol and *trans*-terpin were $y = 1.1554x + 0.0013$ (with $R^2 = 0.9953$) and $y = 1.222x + 0.0091$ (with $R^2 = 0.9996$) respectively. T2 was semi-quantified by using the calibration curve of *trans*-terpin because the pure compound couldn't be purchased. Quantification and semi-quantification were done by either full scan mode or SIM mode. Ion fragment were the following: terpinene-4-ol 71+93 amu; α -terpineol 93+136 amu; *trans*-terpin and T2 59+81+96 amu.

VI.2.2.5 Kinetics modelling

According to the literature, we can assume that the acid hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside follows a first order reaction type. The global reaction pathway can be written according to sequential reactions displayed in **Figure VI.2**. Three reactions have been hypothesized. The first one leading to the degradation of the G- α T and the apparition of the α T with a kinetic rate constant k_1 . The second and the third leading to the degradation of the α T into T1 and T2 with k_2 and k_3 kinetic rate constants, respectively. Hence the appearing or disappearing rates of the different compounds could be written as coupled differential equations:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d[G-\alpha T]}{dt} = -k_1[G-\alpha T] \\ \frac{d[\alpha T]}{dt} = k_1[G-\alpha T] - k_2[\alpha T] - k_3[\alpha T] \\ \frac{d[T1]}{dt} = k_2[\alpha T] \\ \frac{d[T2]}{dt} = k_3[\alpha T] \end{array} \right. \quad \begin{array}{l} [1] \\ [2] \\ [3] \\ [4] \end{array}$$

To identify the values of the kinetic rate constants, k_1 , k_2 and k_3 were adjusted to minimize the ponderated normalized root mean square error (*NRMSE*) between the experimental and modelled data using the *fminsearch* function while the differential equations were solved with *ode15s* in MATLAB 2017b (Mathworks, Natick, Massachusetts, Unites States):

$$NRMSE = \sum \frac{1}{\overline{y_{\text{predicted}}}} \sqrt{\frac{\sum_{t=1}^n (y_{t, \text{predicted}} - y_{t, \text{exp}})^2}{n}} \quad [5]$$

where $y_{t, \text{predicted}}$ and $y_{t, \text{exp}}$ are the predicted and experimental compound concentrations for time t , $\overline{y_{\text{predicted}}}$ is the mean of all predicted values for y and n the number of experimental values.

VI.2.3 Results & discussion

Figure VI.4 gathers all the data obtained from the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside. Each graph displays the triplicate measures (a,b,c). In general, the repeatability of the results allows to establish trends for each compound. **Figure VI.4H** and **Figure VI.4J** display only two repetitions because the third trial had analysis issues.

VI.2.3.1 Effect of ethanol on the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside

As expected regarding the supposed order of the reaction (**Figure VI.2**), the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside in an aqueous solution displays an exponential pattern (**Figure VI.4A**). This observation is in accordance with the previous study of Ohta et al. (1991) which reported a first order reaction for the hydrolysis of glycosylated terpenes as well. Thus, the kinetic rate constant k_1 is determined to be $1.76 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

On the contrary, the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside in 10 % v/v ethanol does not clearly show an exponential pattern (**Figure VI.4B**). Despite the change of solvent from aqueous to 10 % v/v of ethanol, no modification was expected regarding the concentration trend of the substrate during the hydrolysis. Indeed, the evolution of the glycosylated terpene seems to follow a linear pattern which could suggest a pseudo zero order reaction (**Figure VI.4B**). The comparison between the linear model ($k_1 = 3.79 \times 10^{-5} \text{ mM.s}^{-1}$; $R^2 = 0.97$) and the exponential model ($k_1 = 6.95 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; $R^2 = 0.89$) shows that the linear model seems more adjusted even though the exponential one is not completely incoherent. If both first order kinetic rate are compared for water and for ethanol, it can be noted that the kinetic rate constant determined in presence of ethanol is 2.6 times lower than the constant determined in the aqueous environment. This may be due to the fact that water has a better nucleophilicity than the mixture water/ethanol 9:1 and would be more likely to perform a nucleophilic attack on the anomeric carbon than ethanol as shown in **Figure VI.1**. The higher nucleophilicity is due to the higher steric hindrance of ethanol in comparison to water.

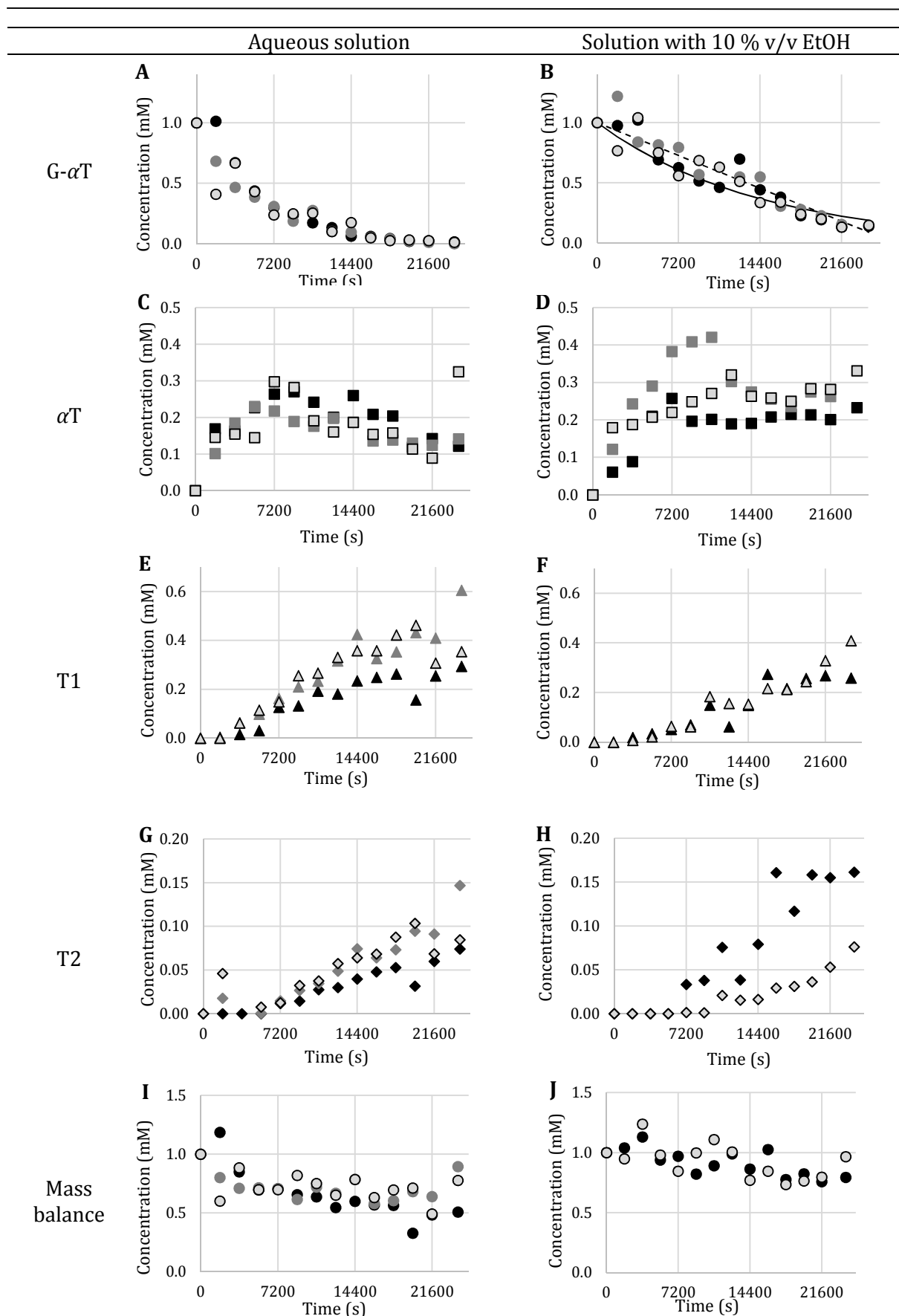


Figure VI.4: Evolution of the concentrations of the substrate and its reaction products over time in aqueous solution (left) and with 10 % v/v of ethanol (right). ■ serial a, ■ serial b, □ serial c. — first order exponential model, - - - pseudo-zero order linear model.

Hence, the hydrolysis of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside is less efficient in 10 % v/v of ethanol than in water.

Regarding the distillation of cognac spirit, these findings lead to infer that, as the distillation depletes the ethanol content in wine, the hydrolysis rate constant of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside would increase. Moreover, **Figure VI.4B** shows that in 400 min, 85 and 99 % of the substrate was degraded in 10 % v/v of ethanol and water, respectively. Yet, the distillation of wine usually lasts about 600 min (10 h) (Lafon et al., 1964; Léauté, 1990). Thus, most of the glycosyl would have reacted at the end of the process.

VI.2.3.2 Formation of terpenes

Figure VI.4C-H shows the formation of α -terpineol, T1 and T2 upon the hydrolysis of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside in an aqueous solution and in 10 % v/v ethanol and in water. Globally, α -terpineol exhibits a coherent behavior in both solvents. Indeed, its concentration rapidly increases at the beginning, then its concentration remains steady. At the beginning, the substrate is readily available to be hydrolyzed in order to form α -terpineol. Thus, the formation rate of α -terpineol is higher than its degradation. As the substrate's concentration gets depleted, the degradation rate of α -terpineol equals the formation one which translates into a steady concentration and a slight decrease toward the end.

The degradation of α -terpineol gives rise to two products: T1 and T2. Indeed, these two compounds begin to be formed after α -terpineol. Plus, once they appear, the concentration of α -terpineol starts to be steady over time. T1 and T2 follow a coherent trend as well. Their concentration keeps increasing as α -terpineol is being consumed. This corroborates the fact that these two compounds are the final products of the reaction. Globally, T1 and T2 have been formed in higher quantities in the aqueous solution. On the other hand, a lesser amount of α -terpineol is retrieved in the aqueous media after 400 min in comparison to the quantities found in the 10 %v/v ethanol solution. Also, after 400 min of hydrolysis, the concentration of α -terpineol and T1 are similar in 10 % v/v ethanol whereas T1 becomes the major product in aqueous conditions. These observations underline the fact that α -terpineol is the precursor of T1 and T2.

Figure VI.4E-H show that T2 is formed in a lesser extent than T1. T1 is the major product because the positive charge located on a tertiary carbon (as shown on **Figure VI.5**) provides a more stable carbocation.

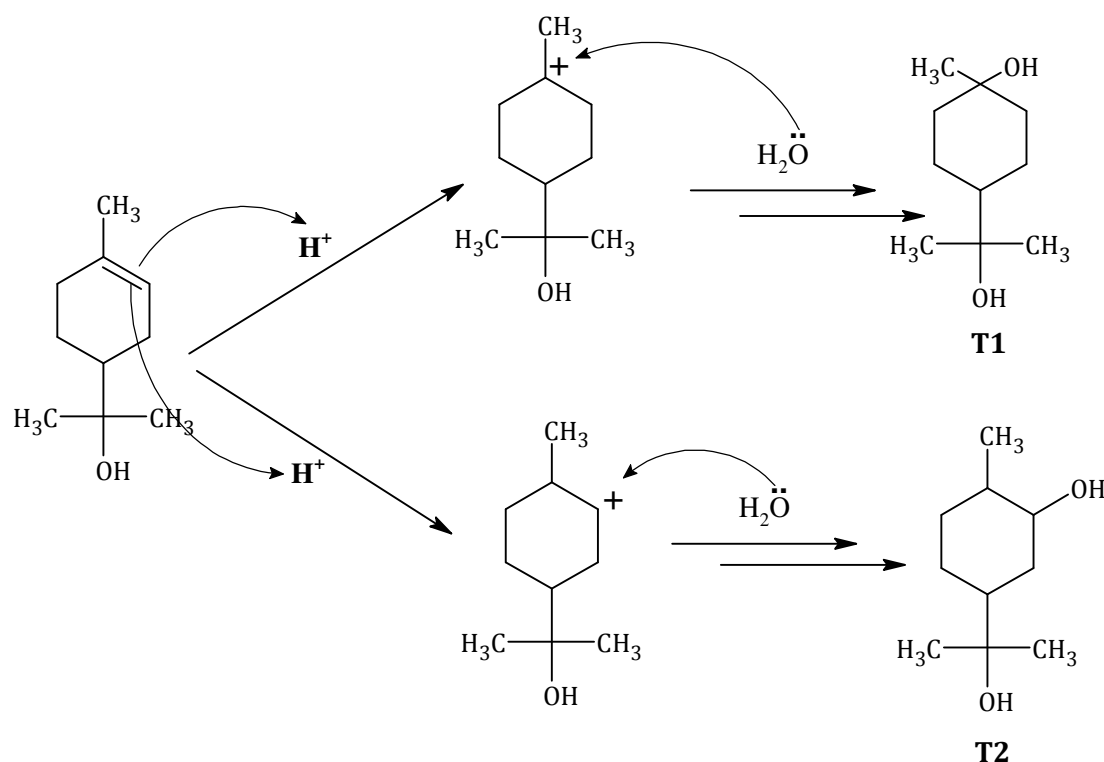


Figure VI.5: Hypothetical mechanism of acid catalyzed oxidation of α -terpineol in aqueous media to form T1 and T2

However, adding the concentrations of every compounds indicates that the mass balance does not add up throughout the hydrolysis in both media. This is in contradiction with the hypothesis previously made suggesting that T1 and T2 are the only degradation products. Therefore, based on the fact that T1 and T2 are terminal products and that the experimental system is perfectly closed, no losses should be found and the sum of all concentrations in the reactor should always equal 1 mM. A possible way to try to explain this problem could come from the fact that the accumulation of experimental errors from sampling to analytical errors may lead to hardly retrieve the concentration of 1 mM. More experiments α T, T1 and T2 are volatile compounds. It is quite obvious that a fraction of these volatile compounds is present in the gas phase and thus is not sampled for quantification. As the headspace in the reactor increases after each sampling, the part of volatilized compound should increase. Then the measured concentration in the liquid phase of the reactor would not be a perfect reflect of the amount of formed compounds. To address this issue, a solution containing known amounts of T1 (the final product), exposed to reaction conditions (100 °C, pH 3.3) would be sampled and quantitated to determine its concentration in the liquid phase throughout the sampling.

Finally, transposing these observations into the distillation of cognac spirit lead to infer that the formation of α -terpineol observed during the distillation process is in fact an intermediate

compound that has not been oxidized yet. At the beginning of the distillation process, the alcohol content in wine being at about 10 % v/v, the formation of α T and T1 would be slow. As the distillation goes on, the ethanol content in the boiler diminishes and would therefore promote the hydrolysis of G- α T and the oxidation of α T to form T1 and T2. However, it is worth to note that, unlike the closed reactor, the passage of α -terpineol from the liquid to the gas phase during the distillation would decrease its capacity to be oxidized. Indeed, as α -terpineol is formed in the boiler, part of it volatilizes to pass through the gas phase and is condensed in the cooling coil to end up in the distillate. Hence, part of α -terpineol may not be present in the liquid phase long enough to be oxidized.

VI.2.3.3 Multi-response modelling of the degradation of G- α T

Beside the hypothesis that were made to explain the behavior of certain results, G- α T degradation could still be modelled by a multi-response approach in order to simulate the concentrations of all compounds involved versus time (**Figure VI.6**).

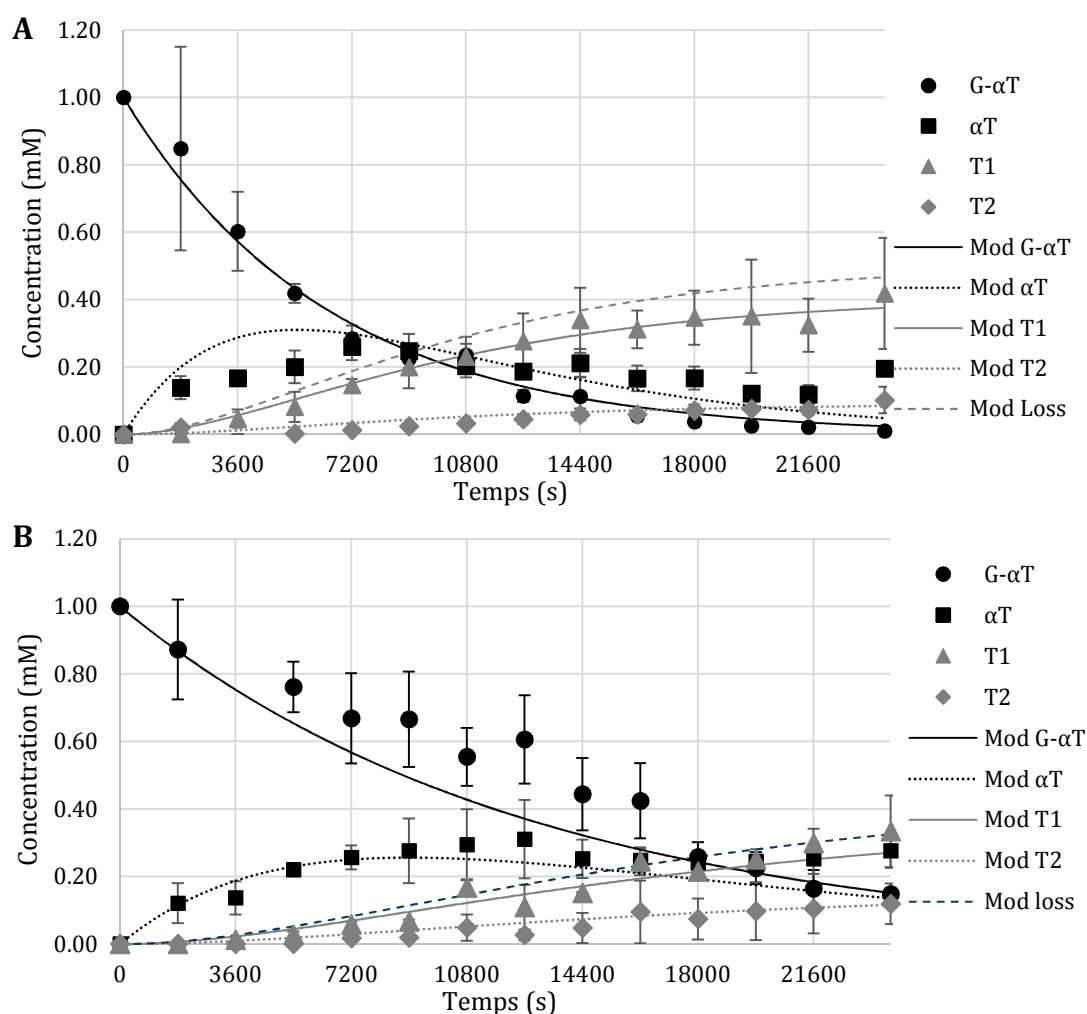


Figure VI.6: Evolution of the concentration of the substrate and its products over time at 100 °C and pH = 3.3 in aqueous solution (A) and 10 % v/v of ethanol (B). Models plotted corresponds to Eq. 1-4 and 6

The 3 reaction pathways mentioned on **Figure VI.2** were kept and a 4th one was added starting from α T and leading to an unknown compound X, with a kinetic rate constant k_4 . Thus a 5th coupled equation has to be added to Eq. 1-4:

$$\frac{d[X]}{dt} = k_4[\alpha T] \quad [6]$$

Figure VI.6 shows that models are coherent with the experimental trends of all molecules. The kinetic rate constants calculated illustrate the difference between water and 10% ethanol and confirm the trend observed during the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside. The kinetic rate constants assessed in aqueous conditions are slightly higher than in 10 % v/v, except for k_3 (**Table VI.1**).

Table VI.1: Kinetic rate constants assessed for the overall reaction pathway

Rate constant (s ⁻¹)	Aqueous	10 % v/v EtOH
k_1	1.55×10^{-4}	7.86×10^{-5}
k_2	8.64×10^{-5}	5.73×10^{-5}
k_3	1.95×10^{-5}	2.47×10^{-5}
k_4	1.07×10^{-4}	6.90×10^{-5}

The hydrolysis of G- α T to form α T and the oxidation of the latter to form T1 seems to be favored in aqueous conditions. The slight difference between k_3 in water and in 10% v/v ethanol (2.47×10^{-5} and $1.95 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ respectively) combined with the high experimental dispersion in the second case doesn't enable to conclude definitively that the formation of T2 could be fostered in 10 % v/v ethanol. Considering the small differences obtained for k_2 and k_3 , additional work needs to be done in order to determine the source of the loss which is not negligible.

VI.2.4 Conclusion

To conclude, the kinetic study of the hydrolysis of α -terpenyl- β -glucopyranoside allowed to assess the formation of terpenes in the conditions of distillation of cognac spirit regarding the pH, ethanol composition and temperature, but did not take into account the continuous extraction of the vapor phase. The results showed that the hydrolysis followed a first order reaction type with a rate constant k_1 of $1.76 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ in an aqueous solution. In a solution containing 10 %v/v of ethanol, the first order model gave a kinetic rate constant k_1 of $6.95 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.

The hydrolysis of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside formed three products: α -terpineol, T1 and T2. The evolution of concentration of these 3 compounds suggests that, once α -terpineol is formed, it undergoes an oxidation to form either T1 or T2; T1 being the major product.

This study shows that within 400 min, more than 85 % of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside has been hydrolyzed. This infers that in a traditional cognac distillation, the majority of the glycosylated compounds present in wine would be hydrolyzed within the 420 min of the process, liberating the sensorially active aglycons.

Finally, the α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside hydrolysis has been modelled by a multi-response approach in order to simulate the concentrations of all compounds involved versus time. This allowed the estimation of the kinetic rate constants k_1 , k_2 , k_3 and k_4 responsible for the formation of α T, T1, T2 and loss respectively. According to the data obtained, it seems that aqueous conditions are more favorable for the formation of α T and ultimately the final product T1. However, given the quantity of mass loss, which was unexpected, additional experiments must be done to reduce the experimental error.

VI.2.5 Points à retenir

- Placée dans des conditions de distillation de l'eau-de-vie de cognac, l'hydrolyse de l' α -terpenyl-O- β -glucopyranoside forme trois produits : l' α -terpineol, le T1 et le T2. Ces produits sont communs aux deux solutions modèles (solution aqueuse et solution à 10 % v/v en éthanol).
- En solution aqueuse, la totalité de l' α -terpenyl-O- β -glucopyranoside a été hydrolysé. On peut donc considérer qu'au cours d'une distillation charentaise, la totalité des précurseurs glycosylés auront été hydrolysés à l'issue de la première chauffe (durée 7 heures)
- Les résultats montrent que l'hydrolyse dans une solution aqueuse suit un modèle de réaction d'ordre 1 avec une constante de vitesse k_1 de $1.76 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.
- Lors d'une hydrolyse dans une solution à 10 % v/v en éthanol, l'évolution de la concentration du substrat semble suivre une tendance linéaire. Toutefois, ajouter une courbe de tendance exponentielle n'est pas aberrant et cette courbe indique une constante de vitesse k_1 de $6.95 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.
 - Des essais expérimentaux supplémentaires sont à prévoir afin de vérifier si la concentration du substrat suit une tendance linéaire.
- L'hydrolyse semble être 2.6 fois plus lente dans un milieu contenant 10 % v/v d'éthanol.

VII. CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse a permis d'identifier un certain nombre de composés volatils qui sont générés durant la distillation, ce qui confirme l'intérêt de comprendre cette étape afin de maîtriser la composition finale du distillat et les propriétés organoleptiques des eaux de vie.

Pour la première fois, un bilan matière complet a pu être effectué sur 43 composés volatils lors de la distillation charentaise. Cette étude montre la composition en composés volatils d'un vin Ugni blanc destiné à la distillation et d'une eau-de-vie nouvelle. Or, nous avons vu qu'il existe peu de données à ce sujet dans la littérature scientifique. Pour doser les composés volatils présents à l'état de trace dans le vin et les échantillons à faible teneur en éthanol, une extraction par distillation à pression réduite a été mise au point. Elle a permis de concentrer les composés volatils tout en se plaçant dans des conditions opératoires qui limitent les pertes en composés volatils et la formation d'artefacts thermiques.

Ce bilan a permis de déterminer les composés volatils formés au cours de la distillation charentaise mais également d'identifier ceux dont la masse ne variait pas au cours du procédé. De plus l'étude a montré que la première distillation est déterminante quant à la formation des composés volatils pendant la distillation. Lors de la seconde chauffe, la quantité des composés volatils reste stable. Enfin, le dosage des composés volatils dans chacun des distillats et des résidus a montré que les composés formés lors de l'étape de distillation se retrouvent majoritairement dans le brouillis puis le cœur. Cela démontre que la distillation a un impact direct sur la qualité de l'eau-de-vie de cognac.

Notre travail a été effectué à partir d'un vin clair. Or, certaines maisons de cognac privilégient la production d'eau-de-vie de cognac à partir de vin accompagné de leurs lies. Selon ces maisons, la distillation en présence de lies, apporterait un caractère particulier aux eaux-de-vie nouvelles. D'autres maisons, comme Martell, proscrivent la distillation avec les lies du vin. L'ajout de lies dans un vin, augmenterait la quantité d'acides aminés qui pourraient favoriser des produits de la réaction de Maillard. De même, il est possible qu'il y ait des phénomènes d'absorption et de désorption de composés volatils et de leurs précurseurs sur les lies. Il serait donc intéressant par la suite d'évaluer l'apport des lies en termes de composés volatils générés.

Ayant pu identifier les composés volatils générés au cours de la distillation charentaise traditionnelle, nous avons voulu déterminer l'influence de mode de chauffe sur la génération de

ces composés. En particulier, nous avons voulu évaluer la présence de points chauds supposés présents lors d'un chauffage à feu nu. La présence de tels points chauds était considérée comme l'un des facteurs principaux de la formation de composés volatils tels que le furfural ou l'isobutanol. Un bilan matière complet suivant le même principe que celui effectué lors de la distillation charentaise, a été établi en alambic pilote pour la première distillation lors d'une chauffe à feu nu et à la vapeur.

Les mesures effectuées par un thermocouple placé sur la paroi interne de l'alambic n'a pas permis de mettre en évidence la présence d'un point chaud sur la paroi interne de l'alambic.

De plus, les bilans matière ont montré qu'il existe peu de différences concernant la formation en composés volatils entre les modes de chauffe. Par ailleurs, les composés volatils formés au cours des deux chaufes sont les mêmes que ceux observés lors d'une distillation charentaise classique (IV.2.7). Ces observations suggèrent que les composés volatils générés au cours du procédé suivent les mêmes tendances pour les deux modes de chaufes testées ici et quel que soit le volume de la chaudière (70 L ou 25 hL).

Parmi les composés volatils générés au cours du procédé de distillation, nous avons sélectionné une molécule afin de caractériser sa réaction de formation. L'étude a porté sur l'hydrolyse acide de l' α -terpenyl- O - β -glucopyranoside formant l' α -terpineol. L' α -terpenyl- O - β -glucopyranoside a été ajouté dans deux solutions modèles à pH = 3,3 : en solutions aqueuse et à 10 % v/v d'éthanol. Exposée à des conditions proches de celles de la distillation, l'hydrolyse de l' α -terpenyl- O - β -glucopyranoside forme trois produits : l' α -terpineol, le *trans*-terpin et le T2. Ces produits sont communs aux deux solutions modèles (solution aqueuse et solution à 10 % v/v en éthanol).

Les résultats montrent que l'hydrolyse dans une solution aqueuse suit un modèle de réaction d'ordre 1 avec une constante de vitesse k_1 de $1.76 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Lors d'une hydrolyse dans une solution à 10 % v/v en éthanol, l'évolution de la concentration du substrat semble suivre une tendance linéaire. Toutefois, une courbe de tendance exponentielle indique une constante de vitesse k_1 de $6.95 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. L'hydrolyse semble être 2.6 fois plus lente dans un milieu hydro-alcoolique. Ainsi, au cours d'une distillation charentaise, ces observations se traduiraient par une accélération de l'hydrolyse des terpènes glycosylés et une oxydation des terpènes libres, à mesure que la teneur en éthanol s'appauvrit dans la chaudière.

Par ailleurs, l'hydrolyse de l' α -terpenyl- O - β -glucopyranoside a été modélisée par une approche multi-réponse afin de simuler les concentrations de l'ensemble des composés en fonction du temps. Cela a permis d'estimer les constantes de vitesse k_1 , k_2 , k_3 and k_4 correspondant à la

formation de l' α -terpineol, *trans*-terpin, T2 et l'apparition de pertes respectivement. Selon les données obtenues, il semblerait que les conditions aqueuses soient plus favorables pour la formation de l' α -terpineol et du produit final : le *trans*-terpin. Cependant, la quantité de matière perdue au cours de la réaction n'est pas négligeable. Davantage d'essais expérimentaux permettraient de réduire l'erreur expérimentale.

Il serait également pertinent de caractériser l'hydrolyse de l' α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside dans un vin. Pour cela, il s'agira de doper un vin d'une quantité connue en α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside. Cette étude permettrait d'observer si des tendances similaires à celles vues en milieu modèle sont observées dans le vin.

Pour caractériser le comportement de l' α -terpineol durant la distillation, il conviendra tout d'abord de mesurer les données d'équilibre liquide-vapeur de celui-ci dans la plage de teneur en éthanol des solutions mises en œuvre dans le procédé de la distillation d'eaux-de-vie cognac. Ces données permettront de simuler son comportement à l'aide d'un logiciel de simulation. Dans un second temps, la constante de vitesse d'hydrolyse de l' α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside pourra être intégrée dans un modèle de distillation discontinue réactive. La cohérence du modèle permettrait ainsi d'évaluer le comportement d'espèces réactives.

VIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alañón, M. E.; Schumacher, R.; Díaz-Maroto, M. C.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Bettoni, J. C.; Gardin, J. P. P.; Pérez-Coello, M. S. By-Products of Pyro-Bituminous Shale as Amendments in Brazilian Vineyards: Influence on Polyphenolic Composition of Cabernet Sauvignon Wines. *Food Research International* **2016**, *81*, 122–132.
- Antalick, G.; Šuklje, K.; Blackman, J. W.; Meeks, C.; Deloire, A.; Schmidtke, L. M. Influence of Grape Composition on Red Wine Ester Profile: Comparison between Cabernet Sauvignon and Shiraz Cultivars from Australian Warm Climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2015**, *63* (18), 4664–4672.
- Askew, B.; Lisle, D. B. Variation in the Concentrations of Higher Alcohols, Methanol and Ethyl Acetate in Brandies. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1971**, *22* (2), 102–104.
- Aslam, M.; Torrence, G. P.; Zey, E. G. Esterification. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2000.
- Awad, P.; Athès, V.; Decloux, M. E.; Ferrari, G.; Snakkers, G.; Raguenaud, P.; Giampaoli, P. Evolution of Volatile Compounds during the Distillation of Cognac Spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2017**, *65* (35), 7736–7748.
- Ayräpää, T. Biosynthetic Formation of Higher Alcohols by Yeast. Dependence on the Nitrogenous Nutrient Level of the Medium. *Journal of the Institute of Brewing* **1971**, *77*, 266–276.
- Äyräpää, T. Formation of Higher Alcohols by Various Yeasts. *Journal of the Institute of Brewing* **1968**, *74* (2), 169–178.
- Aznar, M.; López, R.; Cacho, J. F.; Ferreira, V. Identification and Quantification of Impact Odorants of Aged Red Wines from Rioja. GC-Olfactometry, Quantitative GC-MS, and Odor Evaluation of HPLC Fractions. *Journal of agricultural and food chemistry* **2001**, *49* (6), 2924–2929.
- Babu, G. D. K.; Shanmugam, V.; Ravindranath, S. D.; Joshi, V. P. Comparison of Chemical Composition and Antifungal Activity of Curcuma Longa L. Leaf Oils Produced by Different Water Distillation Techniques. *Flavour and Fragrance Journal* **2007**, *22*, 191–196.
- Badings, H. T. Milk. In *Volatile compounds in foods and beverages*; Maarse, H., Ed.; TNO-CIVO Food Analysis Institute: Zeist, 1991; pp 91–106.
- Barnavon, L.; Doco, T.; Terrier, N.; Ageorges, A.; Romieu, C.; Pellerin, P. Analysis of Cell Wall Neutral Sugar Composition, β -Galactosidase Activity and a Related cDNA Clone throughout the Development of Vitis Vinifera Grape Berries. *Plant Physiology and Biochemistry* **2000**, *38* (4), 289–300.
- Barroso, C. G.; Rodríguez, M. C.; Guillén, D. A.; Pérez-Bustamante, J. A. Analysis of Low Molecular Mass Phenolic Compounds, Furfural and 5-Hydroxymethylfurfural in Brandy de Jerez by High-Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection with Direct Injection. *Journal of Chromatography A* **1996**, *724* (1–2), 125–129.
- Baukal, C. E.; Gebhart, B. Surface Condition Effects on Flame Impingement Heat Transfer. *Experimental Thermal and Fluid Science* **1997**, *15* (97), 323–335.

Baumes, R.; Wirth, J.; Bureau, S.; Günata, Y.; Razungles, A. Biogenesis of C13-Norisoprenoid Compounds: Experiments Supportive for an Apo-Carotenoid Pathway in Grapevines. *Analytica Chimica Acta* **2002**, *458* (1), 3–14.

Baxter, R. L.; Laurie, W. A.; Mchale, D. Transformations of Monoterpenoids in Aqueous Acids: The Reactions of Geraniol, Nerol and Their Acetates in Aqueous Citric Acid. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 2195–2199.

Bell, S. J.; Henschke, P. a. Implications of Nitrogen Nutrition for Grapes, Fermentation and Wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2005**, *11* (3), 242–295.

Bernard, G. La Formation Des Crus de Cognac. *Norois* **1980**, *105* (1), 89–103.

Bertrand, A. *Recueil Des Méthodes D'analyse Des Boissons Spiritueuses, Des Alcools, de La Fraction Aromatique Des Boissons*; OIV: Paris, 1994.

Bezman, Y.; Bilkis, I.; Winterhalter, P.; Fleischmann, P.; Rouseff, R. L.; Baldermann, S.; Naim, M. Thermal Oxidation of 9'-cis-Neoxanthin in a Model System Containing Peroxyacetic Acid Leads to the Potent Odorant Beta-Damascenone. *Journal of agricultural and food chemistry* **2005**, *53* (23), 9199–9206.

Black, C. A.; Parker, M.; Siebert, T. E.; Capone, D. L.; Francis, I. L. Terpenoids and Their Role in Wine Flavour: Recent Advances. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2015**, *21*, 582–600.

BNIC. Expéditions : chiffres clés
http://www.cognac.fr/cognac/_fr/4_pro/index.aspx?page=chiffres_campagne.

Boido, E.; Lloret, A.; Medina, K.; Carrau, F.; Dellacassa, E. Effect of β -Glycosidase Activity of *Oenococcus Oeni* on the Glycosylated Flavor Precursors of Tannat Wine during Malolactic Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50* (8), 2344–2349.

Boss, P.; Pearce, A.; Zhao, Y.; Nicholson, E.; Dennis, E.; Jeffery, D. Potential Grape-Derived Contributions to Volatile Ester Concentrations in Wine. *Molecules* **2015**, *20* (5), 7845–7873.

Bruice, P. Y. Appendix II. In *Organic chemistry*; Pearson International, 2007.

Buttery, R. G.; Teranishi, R.; Ling, L. C.; Turnbaugh, J. G. Quantitative and Sensory Studies on Tomato Paste Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1990**, *38* (1), 336–340.

Caldeira, I.; Anjos, O.; Portal, V.; Belchior, A. P.; Canas, S. Sensory and Chemical Modifications of Wine-Brandy Aged with Chestnut and Oak Wood Fragments in Comparison to Wooden Barrels. *Analytica chimica acta* **2010**, *660* (1–2), 43–52.

Cantagrel, R.; Lurton, L.; Vidal, J.-P.; Galy, B. La Distillation Charentaise Pour L'obtention Des Eaux-de-Vie de Cognac. In *Les eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole - 1er symposium international, Bordeaux 26-30 Juin 1990*; Bertrand, A., Ed.; Lavoisier Tec & Doc: Bordeaux, 1991; pp 60–69.

Cantagrel, R.; Desache, F.; Dumont, V.; Ferrari, G.; Galy, B.; Maignial, L.; Roulland, C.; Snakkers, G.; Girardeau, J. M. Maîtrise de La Qualité Du Cognac À Chaque Étape de Son Élaboration. In *Deuxième colloque international sur les rhums*; DDRT, 1996; pp 62–105.

Caumeil, M. Le Cognac. *Pour la science*. 1983.

Chevance, F.; Guyot-Declerck, C.; Dupont, J.; Collin, S. Investigation of the β -Damascenone Level in

Fresh and Aged Commercial Beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50 (13), 3818–3821.

Cordonnier, R.; Bayonove, C. Mise En Évidence Dans Le Baie de Raisin, Variété Muscat d'Alexandrie, de Monoterpènes Liés Révélabes Par Une Ou Plusieurs Enzymes Du Fruit. *Compte rendu de l'académie des sciences* **1974**, 278, 3387–3390.

Cortés, S.; Gil, M. L.; Fernandez, E. The Influence of Redistillation in the Distribution of Volatile Components of Marc Spirit (Aguardiente) and Its Repercussion on the Aromatic Quality. *Sciences des Aliments* **2002**, 22, 265–275.

Cox, A.; Skouroumounis, G. K.; Elsey, G. M.; Perkins, M. V.; Sefton, M. A. Generation of (E)-1-(2,3,6-Trimethylphenyl)buta-1,3-Diene from C13-Norisoprenoid Precursors. *Journal of agricultural and food chemistry* **2005**, 53, 6777–6783.

Croteau, R. Evidence for the Ionization Steps in Monoterpene Cyclization Reactions Using 2-Fluorogeranyl and 2-Fluorolinalyl Pyrophosphates as Substrates. *Archives of biochemistry and biophysics* **1986**, 251 (2), 777–782.

Croteau, R. Biosynthesis and Catabolism of Monoterpenoids. *Chemical Reviews* **1987**, 87 (5), 929–954.

Croteau, R.; Wheeler, C. J.; Aksela, R.; Oehlschlager, A. C. Inhibition of Monoterpene Cyclases by Sulfonium Analogs of Presumptive Carbocationic Intermediates of the Cyclization Reaction. *The Journal of biological chemistry* **1986**, 261 (16), 7257–7263.

Crupi, P.; Coletta, A.; Antonacci, D. Analysis of Carotenoids in Grapes to Predict Norisoprenoid Varietal Aroma of Wines from Apulia. *Journal of agricultural and food chemistry* **2010**, 58, 9647–9656.

Culleré, L.; Escudero, A.; Cacho, J.; Ferreira, V. Gas Chromatography-Olfactometry and Chemical Quantitative Study of the Aroma of Six Premium Quality Spanish Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, 1653–1660.

Czerny, M.; Grosch, W. Potent Odorants of Raw Arabica Coffee. Their Changes during Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48 (3), 868–872.

Czerny, M.; Christlbauer, M.; Christlbauer, M.; Fischer, A.; Granvogl, M.; Hammer, M.; Hartl, C.; Hernandez, N. M.; Schieberle, P. Re-Investigation on Odour Thresholds of Key Food Aroma Compounds and Development of an Aroma Language Based on Odour Qualities of Defined Aqueous Odorant Solutions. *European Food Research and Technology* **2008**, 228, 265–273.

Daniel, M. A.; Puglisi, C. J.; Capone, D. L.; Elsey, G. M.; Sefton, M. A. Rationalizing the Formation of Damascenone: Synthesis and Hydrolysis of Damascenone Precursors and Their Analogues, in Both Aglycone and Glycoconjugate Forms. *Journal of agricultural and food chemistry* **2008**, 56 (19), 9183–9189.

Daniel, M. A.; Capone, D. L.; Sefton, M. A.; Elsey, G. M. Riesling Acetal Is a Precursor to 1,1,6-Trimethyl-1,2-Dihydronaphthalene (TDN) in Wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2009**, 15, 93–96.

Danon, B.; Marcotullio, G.; de Jong, W. Mechanistic and Kinetic Aspects of Pentose Dehydration towards Furfural in Aqueous Media Employing Homogeneous Catalysis. *Green Chem.* **2014**, 16, 39–54.

Décret du 1er mai 1909 complété par celui du 30 novembre, 1938. (J.O. DU 03-05-09) Portant Sur Le Règlement D'administration Publique Pour La Délimitation de La Région Ayant Pour Ses Eaux-de-Vie Un Droit Exclusif À La Dénomination « Cognac ».

Dinsmoor Webb, A.; Ingraham, J. L. Fusel Oil. In *Advances in Applied Microbiology*; Advances in applied microbiology; Elsevier, 1963; Vol. 5, pp 317–353.

Dirninger, N.; Schaeffer, A. Evolution Des Alcools Supérieurs et Du Méthanol Dans Les Eaux-de-Vie de Fruit Produites Dans Le Nord-Est de La France. *Revue Française d'Oenologie* **1990**, 126, 7–15.

Dong, L. L.; Cheung, C. S.; Leung, C. W. Heat Transfer from an Impinging Premixed Butane/air Slot Flame Jet. *International Journal of Heat and Mass Transfer* **2002**, 45 (5), 979–992.

Drawert, F.; Rapp, A. Gas-Chromatographische Untersuchung Pflanzlicher Aromen. *Chromatographia* **1968**, 1 (11–12), 446–457.

Dziadas, M.; Jeleń, H. H. Comparison of Enzymatic and Acid Hydrolysis of Bound Flavor Compounds in Model System and Grapes. *Food Chemistry* **2016**, 190, 412–418.

Edens, M.; Boerner, D.; Chase, C. R.; Nass, D.; Schiavelli, M. D. The Mechanism of the Meyer-Schuster Rearrangement. *The Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42 (21), 3403–3408.

Esau, P. Pentoses in Wine. I. Survey of Possible Sources. *American Journal of Enology and Viticulture* **1967**, 18, 210–216.

Etiévant, P. X. Wine. In *Volatile Compounds in Foods and Beverages*; Maarse, H., Ed.; TNO-CIVO Food Analysis Institute; Zeist, 1991; pp 483–546.

Etoh, H.; Ina, K.; Iguchi, M. 3 S-(+)-3,7-Dimethyl-1,5-Octadiene-3,7-Diol and Ionone Derivatives from Tea. *Agricultural and Biological Chemistry* **1980**, 44 (12), 2999–3000.

Ferrari, G.; Lablanquie, O.; Pineda, C. Identification de Nouveaux Composés Odorants Dans Les Eau-de-Vie Nouvelles de Cognac. In *2ème symposium International sur les eaux-de-vie d'origine viticole*; Bertrand, A., Ed.; Lavoisier Tec & Doc: Bordeaux; pp 125–129.

Ferrari, G.; Lablanquie, O.; Cantagrel, R.; Ledauphin, J.; Payot, T.; Fournier, N.; Guichard, E. Determination of Key Odorant Compounds in Freshly Distilled Cognac Using GC-O, GC-MS, and Sensory Evaluation. *Journal of agricultural and food chemistry* **2004**, 52, 5670–5676.

Fiches, G.; Deleris, I.; Saint-Eve, A.; Passot, S.; Brunerie, P.; Souchon, I. Influence of the Nonvolatile Fraction on the Sensory Perception of 40% (V/v) Ethanol-Containing French Grape Brandies. *Journal of Sensory Studies* **2014**, 29 (1), 56–63.

Fiches, G.; Saint Eve, A.; Jourden, S.; Délérís, I.; Brunerie, P.; Souchon, I. Temporality of Perception during the Consumption of French Grape Brandies with Different Aging Times in Relation with Aroma Compound Release. *Flavour and Fragrance Journal* **2016**, 31 (1), 31–40.

Fleischmann, P.; Studer, K.; Winterhalter, P. Partial Purification and Kinetic Characterization of a Carotenoid Cleavage Enzyme from Quince Fruit (*Cydonia Oblonga*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50 (6), 1677–1680.

Fox, M. A.; Whitesell, J. K. *Organic Chemistry*; Jones & Bartlett Learning, 2004.

Franitza, L.; Granvogl, M.; Schieberle, P. Influence of the Production Process on the Key Aroma Compounds of Rum: From Molasses to the Spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2016**, *64* (47), 9041–9053.

Fujii, T.; Kobayashi, O.; Yoshimoto, H.; Furukawa, S.; Tamai, Y. Effect of Aeration and Unsaturated Fatty Acids on Expression of the *Saccharomyces Cerevisiae* Alcohol Acetyltransferase Gene. *Applied and environmental microbiology* **1997**, *63* (3), 910–915.

Gaiser, M.; Bell, G. M.; Lim, A. W.; Roberts, N. A.; Faraday, D. B. F.; Schulz, R. A.; Grob, R. Computer Simulation of a Continuous Whisky Still. *Journal of Food Engineering* **2002**, *51* (1), 27–31.

Galy, B.; Loizeau, A.; Giraud, N.; Lurton, L. Mécanismes de Formation et Conséquences Qualitatives de L'isobutanal Présent Dans Les Eaux-de-Vie de Cognac. In *Les eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole - deuxième symposium international, Bordeaux 25-27 Juin 2007*; Paris, 2008; p 112.

Gil, M.; Bottini, R.; Berli, F.; Pontin, M.; Silva, M. F.; Piccoli, P. Volatile Organic Compounds Characterized from Grapevine (*Vitis Vinifera* L. Cv. Malbec) Berries Increase at Pre-Harvest and in Response to UV-B Radiation. *Phytochemistry* **2013**, *96*, 148–157.

Jimenez, R.; Serrana, H. L. G. D. La; Mir, M. V.; Granados, J. Q.; Martinez, M. C. L. *American Journal of Enology and Viticulture*; American Society of Enologists, 1996; Vol. 47.

Gnekow, B.; Ough, C. S. Methanol in Wines and Musts: Source and Amounts. *American Journal of Enology and Viticulture* **1976**, *27* (1), 1–6.

Guedes De Pinho, P.; Silva Ferreira, A. C.; Mendes Pinto, M.; Benitez, J. G.; Hogg, T. A. Determination of Carotenoid Profiles in Grapes, Musts, and Fortified Wines from Douro Varieties of *Vitis Vinifera*. *Journal of agricultural and food chemistry* **2001**, *49* (11), 5484–5488.

Günata, Y. Z.; Bayonove, C. L.; Baumes, R. L.; Cordonnier, R. E. The Aroma of Grapes I. Extraction and Determination of Free and Glycosidically Bound Fractions of Some Grape Aroma Components. *Journal of Chromatography A* **1985**, *331*, 83–90.

Günata, Y. Z.; Bayonove, C. L.; Cordonnier, R. E.; Arnaud, A.; Galzy, P. Hydrolysis of Grape Monoterpenyl Glycosides by *Candida Molischiana* and *Candida Wickerhamii* Glucosidases. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1990**, *50* (4), 499–506.

Günata, Z.; Bitteur, S.; Brillouet, J.-M.; Bayonove, C.; Cordonnier, R. Sequential Enzymic Hydrolysis of Potentially Aromatic Glycosides from Grape. *Carbohydrate Research* **1988**, *184*, 139–149.

Guymon, J. F.; Crowell, E. A. Separation of Vanillin, Syringaldehyde, and Other Aromatic Compounds in the Extracts of French and American Oak Woods by Brandy and Aqueous Alcohol Solutions. *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles* **1968**, *16*, 320–333.

Hashizume, K.; Samuta, T. Green Odorants of Grape Cluster Stem and Their Ability to Cause a Wine Stemmy Flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, *45*, 1333–1337.

ter Heide, R.; de Valois, P. J.; Visser, J.; Jaegers, P. P.; Timmer, R. *Analysis of Foods and Beverages*; Elsevier, 1978.

Herderich, M.; Neubert, C.; Winterhalter, P.; Schreier, P.; Skouroumounis, G. K. Identification of C13-Norisoprenoid Flavour Precursors in Starfruit (*Averrhoa Carambola* L.). *Flavour and Fragrance Journal* **1992**, *7* (4), 179–185.

- Hernández-Gómez, L. F.; Úbeda-Iranzo, J.; García-Romero, E.; Briones-Pérez, A. Comparative Production of Different Melon Distillates: Chemical and Sensory Analyses. *Food Chemistry* **2005**, *90*, 115–125.
- Ho, C.-T.; Zheng, X.; Li, S. Tea Aroma Formation. *Food Science and Human Wellness* **2015**, *4*, 9–27.
- Hodge, J. E. Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1953**, *1* (15), 928–943.
- Hodson, G.; Wilkes, E.; Azevedo, S.; Battaglene, T. Methanol in Wine. *BIO Web of Conferences* **2017**, *2028*.
- Hurd, C. D.; Isenhour, L. L. Pentose Reactions. I. Furfural Formation. *Journal of the American Chemical Society* **1932**, *54* (1), 317–330.
- Isoe, S.; Hyeon, S. B.; Sakan, T. Photo-Oxygenation of Carotenoids. I. The Formation of Dihydroactinidiolide and SS-Ionone from SS-Carote. *Tetrahedron Letters* **1969**, *4* (4), 279–281.
- Isoe, S.; Katsumura, S.; Sakan, T. The Synthesis of Damascenone and B-Damascone and the Possible Mechanism of Their Formation from Carotenoids. *Helvetica Chimica Acta* **1973**, *56* (5), 1514–1516.
- Janusz, A.; Capone, D. L.; Puglisi, C. J.; Perkins, M. V.; Elsey, G. M.; Sefton, M. A. (E)-1-(2,3,6-Trimethylphenyl)buta-1,3-Diene: A Potent Grape-Derived Odorant in Wine. *Journal of agricultural and food chemistry* **2003**, *51*, 7759–7763.
- Jean Crouzet; Pawinee Kanasawud; Mama Sakho. *Carotenoid-Derived Aroma Compounds*; Winterhalter, P., Rouseff, R. L., Eds.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2001; Vol. 802.
- Kanasawud, P.; Crouzet, J. C. Mechanism of Formation of Volatile Compounds by Thermal Degradation of Carotenoids in Aqueous Medium. 2. Lycopene Degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1990**, *38* (1), 1238–1242.
- Kotseridis, Y.; Baumes, R. L.; Skouroumounis, G. K. Quantitative Determination of Free and Hydrolytically Liberated β -Damascenone in Red Grapes and Wines Using a Stable Isotope Dilution Assay. *Journal of Chromatography A* **1999**, *849* (1), 245–254.
- Kumazawa, K.; Masuda, H. Change in the Flavor of Black Tea Drink during Heat Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49* (7), 3304–3309.
- Lafon, R.; Lafon, J.; Couillaud, P. *Le Cognac : Sa Distillation*, J.B. Baill.; 1964.
- Lambrechts, M. G.; Pretorius, I. S. Yeast and Its Importance to Wine Aroma - A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture* **2000**, *21*, 97–129.
- Léauté, R. Distillation in Alambic. *American Journal of Enology and Viticulture* **1990**, *41*, 90–103.
- Ledauphin, J.; Saint-Clair, J.-F.; Lablanquie, O.; Guichard, H.; Fournier, N.; Guichard, E.; Barillier, D. Identification of Trace Volatile Compounds in Freshly Distilled Calvados and Cognac Using Preparative Separations Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry* **2004**, *52*, 5124–5134.
- Ledauphin, J.; Basset, B.; Cohen, S.; Payot, T.; Barillier, D. Identification of Trace Volatile

Compounds in Freshly Distilled Calvados and Cognac: Carbonyl and Sulphur Compounds. *Journal of Food Composition and Analysis* **2006**, 19 (1), 28–40.

Ledauphin, J.; Le Milbeau, C.; Barillier, D.; Hennequin, D. Differences in the Volatile Compositions of French Labeled Brandies (Armagnac, Calvados, Cognac, and Mirabelle) Using GC-MS and PLS-DA. *Journal of agricultural and food chemistry* **2010**, 58 (13), 7782–7793.

Lehtonen, M. J.; Suomalainen, H. Rum. In *Alcoholic beverages*; Rose, A. H., Ed.; 1977; pp 595–631.

Leyrat, M.; Lablanquie, O.; Urruty, S.; Cantagrel, R.; Ferrari, G. The First Aromatic Map of Freshly Distilled Cognac Spirit. In *In vino Analytica scientia, 4th international symposium*; Montpellier, 2005.

Li, Z. Y.; Tao, H. Y.; Yang, R. Z. Preparation of Isoamyl Acetate by Reaction-Distillation Using Ionic Liquid as Catalyst. *Advanced Materials Research* **2012**, 550–553, 164–169.

Lisle, D. B.; Richards, C. P.; Wardleworth, D. F. The Identification of Distilled Alcoholic Beverages. *Journal of the Institute of Brewing* **1978**, 84 (2), 93–96.

Lonvaud-Funel, A.; Renouf, V.; Strehaiano, P. *Microbiologie Du Vin : Bases Fondamentales et Applications*, TEC & DOC.; Lavoisier : Paris, 2010.

Loscos, N.; Hernandez-Orte, P.; Cacho, J.; Ferreira, V. Release and Formation of Varietal Aroma Compounds during Alcoholic Fermentation from Nonfloral Grape Odorless Flavor Precursors Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55 (16), 6674–6684.

Lukić, I.; Tomas, S.; Miličević, B.; Radeka, S.; Peršurić, Đ. Behaviour of Volatile Compounds During Traditional Alembic Distillation of Fermented Muscat Blanc and Muškata Ruža Porečki Grape Marcs. *Journal of the Institute of Brewing* **2011**, 117, 440–450.

Lynen, F. The Role of Biotin-Dependent Carboxylations in Biosynthetic Reactions. *The Biochemical journal* **1967**, 102, 381–400.

Maarse, H. *Volatile Compounds in Foods and Beverages*; CRC Press, 1991.

Maarse, H.; Visscher, C. A. *Volatile Compounds in Food : Qualitative and Quantitative Data*; TNO-CIVO Food Analysis Institute: Zeist, 1990.

Maicas, S.; Mateo, J. J. Hydrolysis of Terpenyl Glycosides in Grape Juice and Other Fruit Juices: A Review. *Applied microbiology and biotechnology* **2005**, 67, 322–335.

Maignial, L.; Pibarot, P.; Bonetti, G.; Chaintreau, A.; Marion, J. P. Simultaneous Distillation—extraction under Static Vacuum: Isolation of Volatile Compounds at Room Temperature. *Journal of Chromatography A* **1992**, 606, 87–94.

Marais, J. Terpenes in the Aroma of Grapes and Wines: A Review. *Afr J Enol Vitic.* 1983;4:49–58. *South African Journal of Enology and Viticulture (South Africa)* **1983**, 4 (2), 49–58.

Marais, J. 1, 1,6-Trimethyl-1,2-Dihydronaphthalene (TDN): A Possible Degradation Product of Lutein and Beta-Carotene. *South African Journal of Enology & Viticulture* **1992**, 13 (1), 52–55.

Mathieu, S.; Terrier, N.; Procureur, J.; Bigey, F.; Günata, Z. A Carotenoid Cleavage Dioxygenase from *Vitis Vinifera* L.: Functional Characterization and Expression during Grape Berry Development in Relation to C13-Norisoprenoid Accumulation. *Journal of Experimental Botany* **2005**, 56 (420),

2721–2731.

Mathieu, S.; Bigey, F.; Procureur, J.; Terrier, N.; Günata, Z. Production of a Recombinant Carotenoid Cleavage Dioxygenase from Grape and Enzyme Assay in Water-Miscible Organic Solvents. *Biotechnology Letters* **2007**, *29* (5), 837–841.

Méjane, J.; Piquois, J. Production D'eaux-de-Vie de Qualité En Continu. *Annales de Technologies Agricole* **1975**, *24*, 343–359.

Mendes-Pinto, M. M. Carotenoid Breakdown Products The—norisoprenoids—in Wine Aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **2009**, *483*, 236–245.

Meng, Y.; Wang, G.; Yang, N.; Zhou, Z.; Li, Y.; Liang, X.; Chen, J.; Li, Y.; Li, J. Two-Step Synthesis of Fatty Acid Ethyl Ester from Soybean Oil Catalyzed by *Yarrowia Lipolytica* Lipase. *Biotechnology for Biofuels* **2011**, *4* (1), 6.

Misselhorn, K. Formation of Acetals in Rum : A Kinetic Study. *Annales de Technologies Agricole* **1975**, *24*, 371–381.

Molina, A. M.; Swiegers, J. H.; Varela, C.; Pretorius, I. S.; Agosin, E. Influence of Wine Fermentation Temperature on the Synthesis of Yeast-Derived Volatile Aroma Compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2007**, *77* (3), 675–687.

Nijssen, L. M. *Volatile Compounds in Food : Qualitative and Quantitative Data*, Nutrition.; TNO-CIVO Food Analysis Institute: Zeist, 1996.

Nordström, K. Formation of Esters from Alcohols by Brewer's Yeast. *Journal of the Institute of Brewing* **1964**, *70* (4), 328–336.

Nykänen, I.; Nykänen, L. Rum Flavour. In *Flavour of distilled beverages : origin and development*; Piggot, J. R., Ed.; 1983; pp 49–63.

Nykänen, I.; Nykänen, L. Distilled Beverages. In *Volatile compounds in foods and beverages*; Maarse, H., Ed.; TNO-CIVO Food Analysis Institute; Zeist, 1991; pp 547–580.

Nykänen, L. Formation and Occurrence of Flavor Compounds in Wine and Distilled Alcoholic Beverages. *American Journal of Enology and Viticulture* **1986**, *37* (1), 84–96.

Nykänen, L.; Suomalainen, H. *Aroma of Beer, Wine and Distilled Beverages*; Akademie-Verlag: Berlin, 1983.

Nykänen, L.; Puputti, E.; Suomalainen, H. Volatile Fatty Acids in Some Brands of Whisky, Cognac and Rum. *Journal of Food Science* **1968**, *33*, 88–92.

Ohta, T.; Morimitsu, Y.; Sameshima, Y.; Samuta, T.; Ohba, T. Transformation from Geraniol, Nerol and Their Glucosides into Linalool and α -Terpineol during Shochu Distillation. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1991**, *72* (5), 347–351.

Oppliger, S. R.; Münger, L. H.; Nyström, L. Rapid and Highly Accurate Detection of Steryl Glycosides by Ultrapformance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2014**, *62* (39), 9410–9419.

Otsuka, K.-I.; Iki, I.; Yamashita, T.; Totsuka, A. Types and Components of Alcoholic Beverages. II. Relation between Aging Grade and Components of Cognac Brandy. *Journal of the Society of*

Brewing Japan **1979**, 74 (8), 549.

Parfait, A.; Jouret, C. Formation Des Alcools Supérieurs Dans Les Rhums. *Annales de Technologies Agricole* **1975**, 24, 421–436.

Park, S. K.; Noble, A. C. *Beer and Wine Production*; Gump, B. H., Pruett, D. J., Eds.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1993; Vol. 536.

Patil, A. G.; Koolwal, S. M.; Butala, H. D. Fusel Oil: Composition, Removal and Potential Utilization. *International sugar journal* **2002**, 104 (1238), 51–58.

Poiron, T. La Distillation Charentaise Dans L'élaboration D'une Eau-de-Vie de Cognac, Université de Poitiers, 1997.

Poisson, L.; Schieberle, P. Characterization of the Key Aroma Compounds in an American Bourbon Whisky by Quantitative Measurements, Aroma Recombination, and Omission Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, 56, 5820–5826.

Puech, J. L.; Leaute, R.; Clot, G.; Mondies, H. Evolution de Divers Constituants Volatils et Phénoliques Des Eaux de Vie de Cognac Au Cours de Leur Vieillessement. *Sci.Aliments* **1984**, 4, 65–80.

Quesada Granados, J.; Villalón Mir, M.; López García-Serrana, H.; López Martínez, M. C. Influence of Aging Factors on the Furanic Aldehyde Contents of Matured Brandies: Aging Markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, 44 (6), 1378–1381.

Rapp, A.; Mandery, H. Wine Aroma. *Experientia* **1986**, 42, 873–884.

Razungles, A.; Günata, Z.; Pinatel, S.; Baumes, R.; Bayonove, C. Etude Quantitative de Composés Terpéniques, Norisopréniques et de Leurs Précurseurs Dans Diverses Variétés de Raisin. *Sciences des Aliments* **1993**, 13 (1), 59–72.

Renault, P.; Coulon, J.; de Revel, G.; Barbe, J. C.; Bely, M. Increase of Fruity Aroma during Mixed T. delbrueckii/S. Cerevisiae Wine Fermentation Is Linked to Specific Esters Enhancement. *International Journal of Food Microbiology* **2015**, 207, 40–48.

Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. *Traité D'oenologie - Tome 2 - 5e Éd. - Chimie Du Vin: Stabilisation et Traitements*, Dunod.; Paris, 2004.

Ribéreau-Gayon, P.; Dubourdieu, D.; Donèche, B.; Lonvaud, A. *Traité d'Œnologie. Tome 1: Microbiologie Du Vin, Vinifications*, Dunod.; Paris, 2012.

Robinson, A. L.; Boss, P. K.; Solomon, P. S.; Trengove, R. D.; Heymann, H.; Ebeler, S. E. Origins of Grape and Wine Aroma. Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts. *American Journal of Enology and Viticulture* **2014**, 65 (1), 1–24.

Rollero, S.; Bloem, A.; Camarasa, C.; Sanchez, I.; Ortiz-Julien, A.; Sablayrolles, J.-M.; Dequin, S.; Mouret, J.-R. Combined Effects of Nutrients and Temperature on the Production of Fermentative Aromas by *Saccharomyces Cerevisiae* during Wine Fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2015**, 99 (5), 2291–2304.

Ronkainen, P. Chromatographic Identification of Carbonyl Compounds. *Journal of Chromatography A* **1967**, 27, 384–387.

- Sacks, G. L.; Gates, M. J.; Ferry, F. X.; Lavin, E. H.; Kurtz, A. J.; Acree, T. E. Sensory Threshold of 1,1,6-Trimethyl-1,2-Dihydronaphthalene (TDN) and Concentrations in Young Riesling and Non-Riesling Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2012**, *60*, 2998–3004.
- Saerens, S. M. G.; Delvaux, F. R.; Verstrepen, K. J.; Van Dijck, P.; Thevelein, J. M.; Delvaux, F. R. Parameters Affecting Ethyl Ester Production by *Saccharomyces Cerevisiae* during Fermentation. *Applied and environmental microbiology* **2008**, *74* (2), 454–461.
- Saerens, S. M. G.; Delvaux, F. R.; Verstrepen, K. J.; Thevelein, J. M. Production and Biological Function of Volatile Esters in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Microbial biotechnology* **2010**, *3* (2), 165–177.
- Salo, P.; Nykänen, L.; Suomalainen, H. Odor Thresholds and Relative Intensities of Volatile Arome Components in an Artificial Beverage Imitating Whisky. *Journal of Food Science* **1972**, *37*, 394–398.
- Sarazin, O. Le Cognac Pèse Désormais 3 Milliards D'euros de Chiffre D'affaires - Sud Ouest.fr. *Sud Ouest*. August 2017.
- Sarry, J. E.; Günata, Z. Plant and Microbial Glycoside Hydrolases: Volatile Release from Glycosidic Aroma Precursors. *Food Chemistry*. October 2004, pp 509–521.
- Schreier, P.; Drawert, F.; Winkler, F. Composition of Neutral Volatile Constituents in Grape Brandies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1979**, *27* (2), 365–372.
- Schulte-Elte, K. H.; Gautschi, F.; Renold, W.; Hauser, A.; Fankhauser, P.; Limacher, J.; Ohloff, G. Vitispiranes, Important Constitutents of Vanilla Aroma. *Helvetica Chimica Acta* **1978**, *61* (3), 1125–1133.
- Sefton, M. A.; Francis, I. L.; Williams, P. J. Free and Bound Volatile Secondary Metabolites of *Vitis Vinifera* Grape Cv. Sauvignon Blanc. *Journal of Food Science* **1994**, *59*, 142–147.
- Sefton, M. A.; Skouroumounis, G. K.; Elsey, G. M.; Taylor, D. K. Occurrence, Sensory Impact, Formation, and Fate of Damascenone in Grapes, Wines, and Other Foods and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59* (18), 9717–9746.
- Simpson R.F. Miller G.C. Aroma Composition of Chardonnay Wine. *Vitis* **1984**, No. 23, 143–158.
- Skouroumounis, G. K.; Sefton, M. A. Acid-Catalyzed Hydrolysis of Alcohols and Their Beta-D-Glucopyranosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48*, 2033–2039.
- Skouroumounis, G. K.; Massy-Westropp, R. A.; Sefton, M. A.; Williams, P. J. Precursors of Damascenone in Fruit Juices. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33* (24), 3533–3536.
- Snakkers, G.; Estreguil, S.; Gaschet, J.; Lablanquie, O.; Lurton, L. Carbonyl Compounds in Cognac Spirits. In *Worldwide distilled spirits conference: future challenges, new solutions*; Glasgow, 2015.
- Strauss, C. R.; Dimitriadis, E.; Wilson, B.; Williams, P. J. Studies on the Hydrolysis of Two Megastigma-3,6,9-Triols Rationalizing the Origins of Some Volatile C13 Norisoprenoids of *Vitis Vinifera* Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1986**, *34* (1), 145–149.
- Strauss, C. R.; Wilson, B.; Anderson, R.; Williams, P. J. Development of Precursors of C13-Norisoprenoid Flavorants in Riesling Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* **1987**, *38*, 23–27.

- Stribny, J.; Gamero, A.; Pérez-Torrado, R.; Querol, A. Saccharomyces Kudriavzevii and Saccharomyces Uvarum Differ from Saccharomyces Cerevisiae during the Production of Aroma-Active Higher Alcohols and Acetate Esters Using Their Amino Acidic Precursors. *International Journal of Food Microbiology* **2015**, *205*, 41–46.
- Suomalainen, H. Yeast Esterases and Aroma Esters in Alcoholic Beverages. *Journal of the Institute of Brewing* **1981**, *87* (5), 296–300.
- Suomalainen, H.; Ronkainen, P. Keto Acids in Baker's Yeast and in Fermentation Solution. *Journal of the Institute of Brewing* **1963**, *69* (6), 478–483.
- Torrea, D.; Varela, C.; Ugliano, M.; Ancin-Azpilicueta, C.; Leigh Francis, I.; Henschke, P. A. Comparison of Inorganic and Organic Nitrogen Supplementation of Grape Juice - Effect on Volatile Composition and Aroma Profile of a Chardonnay Wine Fermented with Saccharomyces Cerevisiae Yeast. *Food Chemistry* **2011**, *127* (3), 1072–1083.
- Ugliano, M.; Travis, B.; Francis, I. L.; Henschke, P. A. Volatile Composition and Sensory Properties of Shiraz Wines as Affected by Nitrogen Supplementation and Yeast Species: Rationalizing Nitrogen Modulation of Wine Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, *58* (23), 12417–12425.
- Verre, P. Le Cuivre et Ses Applications Dans La Distillerie Du Cognac. In *Elaboration et connaissance des spiritueux*; Cantagrel, R., Ed.; Lavoisier Tec & Doc: Paris, 1993; pp 272–277.
- Versari, A.; Parpinello, G. P.; Cattaneo, M. Leuconostoc Oenos and Malolactic Fermentation in Wine: A Review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **1999**, *23* (6), 447–455.
- Wanikawa, A.; Hosoi, K.; Kato, T.; Nakagawa, K. Identification of Green Note Compounds in Malt Whisky Using Multidimensional Gas Chromatography. *Flavour and Fragrance Journal* **2002**, *17*, 207–211.
- Williams, G. C. Vapor-Liquid Equilibria of Organic Homologues in Ethanol-Water Solutions. *American Journal of Enology and Viticulture* **1962**, *13*.
- Williams, P. J.; Strauss, C. R.; Wilson, B. Hydroxylated Linalool Derivatives as Precursors of Volatile Monoterpenes of Muscat Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1980**, *28* (4), 766–771.
- Williams, P. J.; Strauss, C. R.; Wilson, B.; Massy-Westropp, R. A. Novel Monoterpene Disaccharide Glycosides of Vitis Vinifera Grapes and Wines. *Phytochemistry* **1982a**, *21* (8), 2013–2020.
- Williams, P. J.; Strauss, C. R.; Wilson, B.; Massy-Westropp, R. A. Use of C18 Reversed-Phase Liquid Chromatography for the Isolation of Monoterpene Glycosides and nor-Isoprenoid Precursors from Grape Juice and Wines. *Journal of Chromatography A* **1982b**, *235* (2), 471–480.
- Williams, P. J.; Cynkar, W.; Francis, I. L.; Gray, J. D.; Iland, P. G.; Coombe, B. G. Quantification of Glycosides in Grapes, Juices, and Wines through a Determination of Glycosyl Glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1995**, *43*, 121–128.
- Winterhalter, P. 1,1,6-Trimethyl-1,2-Dihydronaphthalene (TDN) Formation in Wine. 1. Studies on the Hydrolysis of 2,6,10,10-Tetramethyl-1-oxaspiro[4.5]dec-6-Ene-2,8-Diol Rationalizing the Origin of TDN and Related C13 Norisoprenoids in Riesling Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1991**, *39* (10), 1825–1829.

Winterhalter, P.; Schreier, P. C13-Norisoprenoid Glycosides in Plant Tissues: An Overview on Their Occurrence, Composition and Role as Flavour Precursors. *Flavour and Fragrance Journal* **1994**, 9, 281–287.

Winterhalter, P.; Rouseff, R. L. Carotenoid Derived Aroma Compounds : An Introduction. In *Carotenoid derived aroma compounds*; Winterhalter, P., Rouseff, R. L., Eds.; Washington, DC, 2002; pp 1–17.

Winterhalter, P.; Sefton, M. A.; Williams, P. J. Volatile C13-Norisoprenoid Compounds in Riesling Wine Are Generated from Multiple Precursors. *American Journal of Enology and Viticulture* **1990**, 41 (4), 277–283.

Wintoch, H.; Morales, A.; Duque, C.; Schreier, P. (R)-(-)-(E)-2,6-Dimethyl-3,7-Octadiene-2,6-Diol 6-O-beta-D-Glucopyranoside: Natural Precursor of Hotrienol from Lulo Fruit (*Solanum Vestissimum* D.) Peelings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1993**, 41 (8), 1311–1314.

Young, P. R.; Lashbrooke, J. G.; Alexandersson, E.; Jacobson, D.; Moser, C.; Velasco, R.; Vivier, M. A. The Genes and Enzymes of the Carotenoid Metabolic Pathway in *Vitis Vinifera* L. *BMC Genomics* **2012**, 13 (1), 243.

Younis, O. S.; Stewart, G. G. Sugar Uptake and Subsequent Ester and Higher Alcohol Production by *Saccharomyces Cerevisiae*. *Journal of the Institute of Brewing* **1998**, 104, 255–264.

Yuan, F.; Qian, M. C. Development of C13-Norisoprenoids, Carotenoids and Other Volatile Compounds in *Vitis Vinifera* L. Cv. Pinot Noir Grapes. *Food Chemistry* **2016**, 192, 633–641.

Zierer, B.; Schieberle, P.; Granvogl, M. Aroma-Active Compounds in Bartlett Pears and Their Changes during the Manufacturing Process of Bartlett Pear Brandy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2016**, 64, 9515–9522.

Zoecklein, B. W.; Fugelsang, K. C.; Gump, B. H.; Nury, F. S. *Wine Analysis and Production*; Springer US: Boston, MA, 1999.

Décret N° 2015-10 Du 7 Janvier 2015 Relatif À L'appellation D'origine Contrôlée « Cognac » Ou « Eau-de-Vie de Cognac » Ou « Eau-de-Vie Des Charentes ».

Titre : Identification et compréhension des processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils lors de la distillation charentaise influant sur la qualité des eaux-de-vie de Cognac

Mots clés : distillation discontinue, eaux-de-vie, composés volatils, réactivité chimique

Résumé : La distillation dite « charentaise » est une méthode de distillation discontinue permettant la production d'eaux-de-vie de cognac à partir de vin. La distillation est effectuée dans des alambics en cuivre avec un chauffage à feu nu qui peut être favorable à la génération de composés volatils. Or, les précurseurs et les mécanismes de réactions formant ces composés, pendant la distillation, restent mal connus. La première partie de l'étude consiste à identifier les composés volatils formés au cours de la distillation charentaise. Le bilan matière effectué sur de nombreux composés lors du procédé de distillation a révélé que 2 esters, 3 aldéhydes, 3 terpènes et 12 norisoprénoides étaient générés. Par la suite, deux distillations utilisant un mode de

chauffe différent (feu nu et vapeur) ont été menées sur un alambic pilote. Le but était d'évaluer l'impact du mode de chauffe sur la génération en composés volatils. L'étude a montré que le mode de chauffe a peu d'effet sur la génération en composés volatils. De plus, les composés formés sont similaires à ceux formés lors de la distillation en alambic traditionnel. Enfin, le troisième axe de l'étude porte sur la caractérisation de l'hydrolyse acide de l' α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside, précurseur impliqué dans la formation de l' α -terpineol, identifié comme étant généré lors de la distillation charentaise ainsi qu'en alambic pilote. Le suivi de la dégradation dans un réacteur hermétiquement fermé de l' α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside et dans des conditions représentatives du vin durant la distillation montre l'hydrolyse pour former l' α -terpineol, le *trans*-terpin et son isomère. Cette étude a révélé que l'hydrolyse du précurseur est favorisée en milieu aqueux et suit une cinétique d'ordre 1

Title : Identification and understanding the reaction process leading to the generation of volatile compounds during the charentaise distillation impacting the cognac spirits' quality

Keywords : batch distillation, spirits, volatile compounds, chemical reactivity

Abstract : The « charentaise » distillation is a batch distillation method that allows the production of cognac spirits from wine. The distillation is performed in copper alembics through a direct open flame heating that could favor the formation of volatile compounds. The first part of this study consists in identifying the volatile compounds formed during the distillation of cognac spirits. The mass balance performed on volatile compounds revealed that 2 esters, 3 aldehydes, 3 terpenes and 12 norisoprenoids were generated. Thereafter, two distillations using a different heating mode (direct open flame and steam) were conducted on a small-scale alembic. The goal was to assess the impact of the heating

mode on the formation of volatile compounds. The study showed that the mode of heating has little effect on volatile compounds' generation. Moreover, the compounds formed are similar to the ones during the traditional distillation of cognac spirit. Finally, the third part of the study focuses on the characterization of the acid hydrolysis of α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside which is the suspected precursor to be involved in the formation of α -terpineol, identified as generated during the charentaise distillation and in small-scale distillations. α -terpenyl-*O*- β -glucopyranoside was placed in two representative model solutions corresponding to the initial wine and the stillage. Both solutions were exposed to 100 °C in a closed reactor system. Results showed that the hydrolysis of the precursor formed α -terpineol, *trans*-terpin and its isomere that seems to be 4-(2-hydroxypropan-2-yl)-1-methylcyclohexan-2-ol). Data also revealed that the hydrolysis of the precursor follows a first order reaction model and that an aqueous media promotes the formation of *trans*-terpin.

