



Soumis pour publication dans Cerevisia

Revue sur les étonnantes analogies et les différences relevées entre un cône de houblon et une baie de raisin–Partie II: Les constituants majeurs



Jacques Gros, Marie-Lucie Kankolongo Cibaka, Sonia Collin*

Unité de Brasserie et des Industries Alimentaires, Earth and Life Institute ELIM, Faculté d'Ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université catholique de Louvain, Croix du Sud, 2 box L7.05.07, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

ARTICLE INFO

Mots-clés :

Raisin
Vigne
Houblon (*Humulus lupulus*)
Bière
Vin

Introduction

Cette revue bibliographique vise à montrer tant aux brasseurs qu'aux oenologues combien sont nombreuses les analogies entre houblon et vigne. Le premier volet s'est attaché à décrire les pratiques culturelles de ces deux plantes grimpantes, l'anatomie de leur inflorescence ou de leur fruit ainsi que les tendances actuelles en matière de sélection. Dans cette seconde partie, le lecteur trouvera une description détaillée des constituants majeurs du houblon et du raisin. C'est au sein de ces constituants majeurs que l'on retrouve les molécules les plus spécifiques à chacune de ces deux matrices, à savoir les résines amères du houblon et l'acide tartrique du raisin.

La Table 1 reprend la composition du raisin et du houblon, pour une gamme représentative de cépages et de variétés. La plupart des données relatives aux cônes de houblon proviennent de mesures prises sur matière sèche. Par souci de comparaison avec la baie de raisin, les pourcentages des constituants majeurs ont été convertis en équivalents de matière humide.

Les résines du houblon

Les résines amères qui peuvent atteindre 40% du poids du cône après séchage (Hughes et Simpson, 1993) se divisent en deux grandes catégories: les résines molles, solubles dans l'hexane, par opposition aux résines dures (Fig. 1). Dans les résines molles totales, on retrouve les acides *alpha* et *beta*, auxquels s'ajoutent notamment

des composés issus de l'oxydation de ces derniers (Esslinger and Narziss, 2012).

a) Résines molles

Les résines molles sont essentiellement constituées des acides *alpha* et *beta* (Figures 1 et 2). Outre leurs propriétés amérisantes après isomérisation, on leur reconnaît des activités pro-mousse, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Van Cleemput et al., 2009).

Les teneurs relatives et individuelles en acides *alpha* et *beta* dépendent grandement de la variété de houblon et des conditions de culture (Van Cleemput et al., 2009). C'est par leur aptitude à précipiter en présence d'acétate de plomb que les acides *alpha* ont été la première fraction isolée (Hayduck, 1888), et l'humulone (1a Fig. 2) le premier constituant caractérisé (Lintner et Schnell, 1904). La présence d'homologues, notamment la cohumulones (30% des acides *alpha*), a été révélée plus tard (Fig. 2) (Rigby and Bethune, 1952). Aujourd'hui encore, cette fraction d'intérêt majeur pour le brasseur s'impose comme élément discriminant des variétés aromatiques (<7% m/m) et amérisantes (>7%) (Lermusieau et Collin, 2002).

Des isoprènes aux humulones

De nature terpénophénolique, les acides du houblon sont synthétisés au départ de malonyl-coenzyme A et d'isoprényl pyrophosphate, au cours du développement des trichomes, dès la formation du cône. Les acides *alpha* et *beta*, ainsi que les flavonoïdes prénylés, sont issus de la polymérisation des mêmes unités (Okada et al., 2001) (Fig. 3).

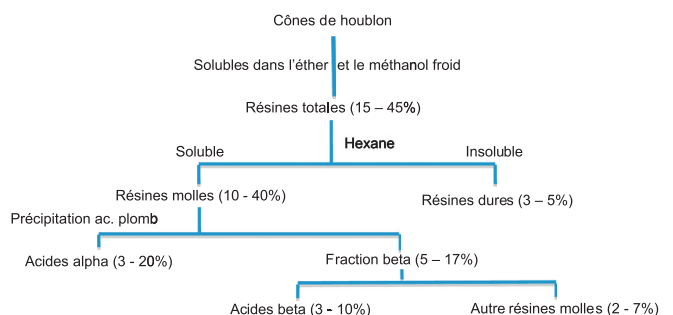
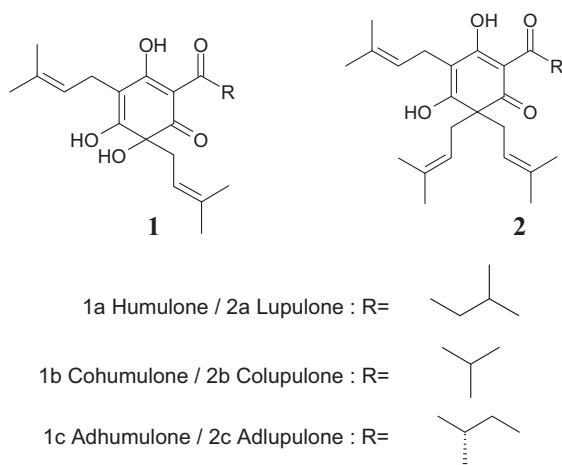
* Corresponding author. Fax: +32 10 47 21 78.

E-mail address: sonia.collin@uclouvain.be (S. Collin).

Tableau 1Comparaison des constituants majeurs du cône de houblon (*Humulus lupulus* L.) et de la baie de raisin (*Vitis vinifera*).

Composants	Cône de houblon femelle séché (en % m/m)	Cône de houblon femelle avant séchage (en % m/m)	Baie de raisin (en % m/m)
Eau	10 ^a	80	78 – 82 ^b
Protéines et acides aminés	15 ^a	3	0,5 – 0,6 ^b
Monosaccharides	2 ^a	0,4	15 – 20 ^b
Acides organiques	/	/	78 – 138 méq/L ^c
Acide tartrique			10 – 78 méq/L ^{c,d}
Acide malique			10 – 65 méq/L ^{c,d}
Pectines – Cellulose – Lignine	40 – 50 ^a	8–10	1,3 ^b
Cendres	8 – 10 ^a	1,6 – 2	0,4 ^b
Lipides	1 – 5 ^a	0,4 – 1	0,1 – 0,7 ^b
Composés volatils (ppm)	1000 – 20 000 ppm ^a	200 – 4000 ppm	2,3 – 13 ppm
Résines totales	7 – 30 ^a	1,4 – 6	/
Acides alpha	3 – 20 ^a	0,6 – 4	
Acides beta	2 – 18 ^a	0,4 – 3,6	
Résines dures	3 ^a	0,6	

Référence a: De Keukeleire, 1993; Référence b: Favier et al., 1995; Référence c: Ollat et al., 2002; Référence d: Peyrot des Gachons et al., 2005.

**Fig. 1.** Fractionnement des résines de houblon (en % m/m du cône de houblon) (Hough et al., 1971).**Fig. 2.** Les humulones et les lupulones (d'après De Keukeleire, 1999).

On désigne également ces composés sous le nom de «vinylogues» (car issus de la polymérisation des isoprènes possédant une fonction vinylo). Un intermédiaire commun à la synthèse des flavanoïdes est le cycle phloroglucinol formé via la chaîne bêta-polykétide (Drawert et Beier, 1976). L'isovaléryl CoA venant de la voie de synthèse de l'acide mévalonique (impliquée dans la biosynthèse des terpènes) et l'acylation des malonyl-CoA dérivés d'acides aminés apolaires (leucine, valine, isoleucine) par la valérophénone synthase donnent les acylphloroglucinols prénylés (acides *alpha* et *beta*). L'acylation par le cinnamoyl-CoA ou le coumaroyl-CoA amène, par contre, aux chalcones (Matousek et al., 2002; Okada et al., 2001).

Une cinétique d'accumulation variable selon la variété

Une étude récente a permis de comprendre comment évoluent les teneurs de 5 analogues d'humulones et de lupulones dans la variété Zeus (Fig. 4). Dans ce houblon super *alpha*, on observe une accumulation progressive de l'humulone, contrairement à la variété aromatique Willamette qui l'accumule essentiellement aux premiers et derniers stades du développement de son cône (Kavalier et al., 2011). Parallèlement, on observe une diminution des teneurs en phénylalanine, en leucine et en valine pour la variété Willamette, tandis que seule la phénylalanine voit ses teneurs chuter dans la variété Zeus. Les auteurs suspectent une mobilisation des acides aminés pour la production des métabolites secondaires dans les trichomes.

Des cônes aux pellets et extraits

Les cônes de houblon ont progressivement été remplacés en brasserie par les pellets. Parmi ceux-ci, on distingue les T90 des T45 selon que l'on conserve 90 ou 45% en poids des cônes broyés. A basse température, la lupuline moins adhérente peut ainsi être partiellement ôtée du matériel végétal (pour les T45). Moins volumineux, les pellets assurent une meilleure protection contre l'oxydation des résines, et accessoirement contre l'oxydation des composés odorants (Forster, 1978; Priest et al., 1991; Lermusieau et Collin, 2002). Des extraits aux solvants liquides ou supercritiques permettent de tirer encore mieux profit de ces résines en s'affranchissant des matières végétales. Le risque de co-extraction de contaminants par l'éthanol et les problèmes de sécurité liés à son utilisation ont amené les fournisseurs à privilégier le CO₂ à l'état liquide (60 bars à 5–10° C) ou mieux, à l'état supercritique (300 bars à 60° C) (Moir, 2000). Les extraits CO₂ présentent l'avantage d'être exempts de résines dures, de cires et de pigments, mais aussi de tannins (Moir, 1988; Hughes et Simpson, 1993). Aujourd'hui, ce type d'extraits domine le marché.

L'isomérisation des acides alpha

Le houblon est habituellement ajouté en début d'ébullition pour tirer profit de son potentiel amérissant. L'isomérisation des acides *alpha* augmente leur solubilité ainsi que leur amertume (Verzele, 1986) (Fig. 5). Les pellets permettent d'atteindre un rendement d'isomérisation de 10 à 15% supérieur à celui des cônes (Esslinger et al., 2012). Sont ainsi formés les *cis*- et *trans*-isohumulones avec un taux d'isomérisation de 30 à 60% selon le moment de l'ajout et la forme de houblon utilisée (extrait ou pellets). Le ratio *cis:trans* obtenu est voisin de 3:1 en chaudière d'ébullition. Le *cis*, isomère thermodynamique, est d'autant plus formé que l'ébullition est

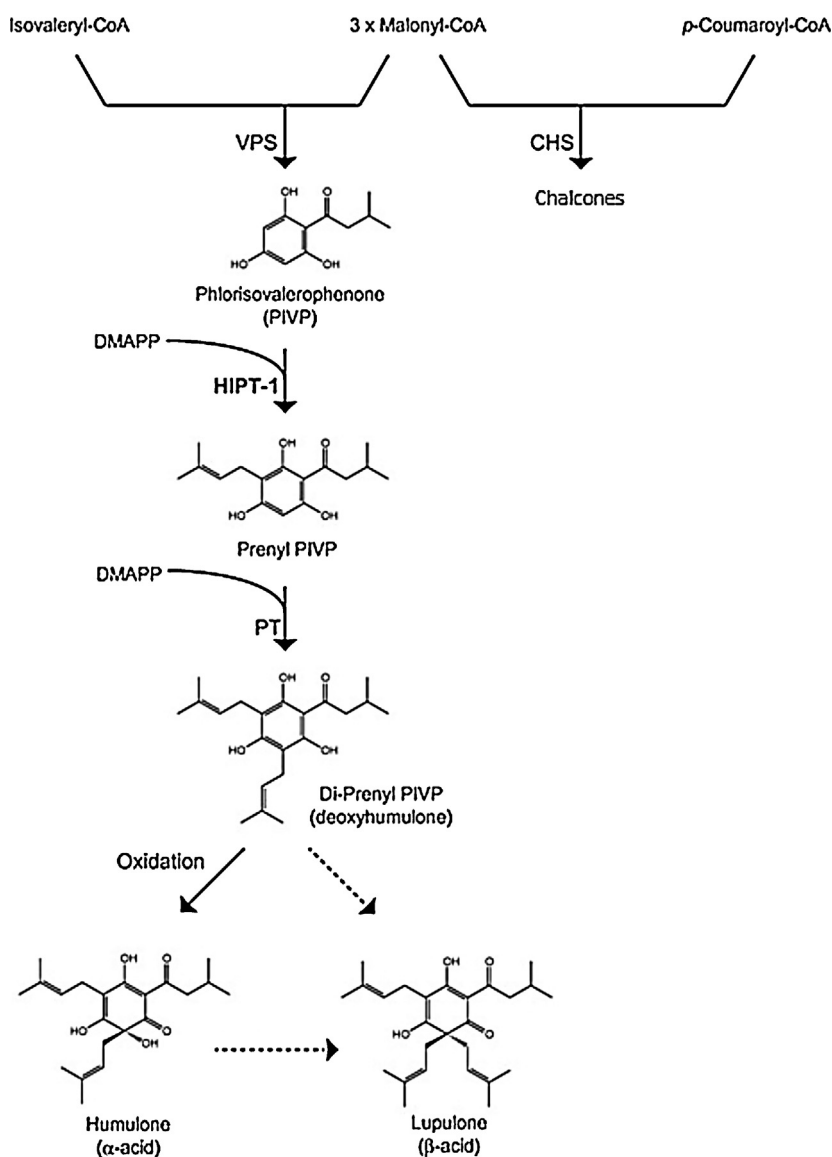


Fig. 3. Biosynthèse des humulones et lupulones dans les glandes lupulines. HIPT-1, prényltransférase; VPS, valérophénone synthase; DMAPP, diméthyl allyl pyrophosphate; CHS, chalcone synthase; PT, prényltransférase (Tsurumaru et al., 2012).

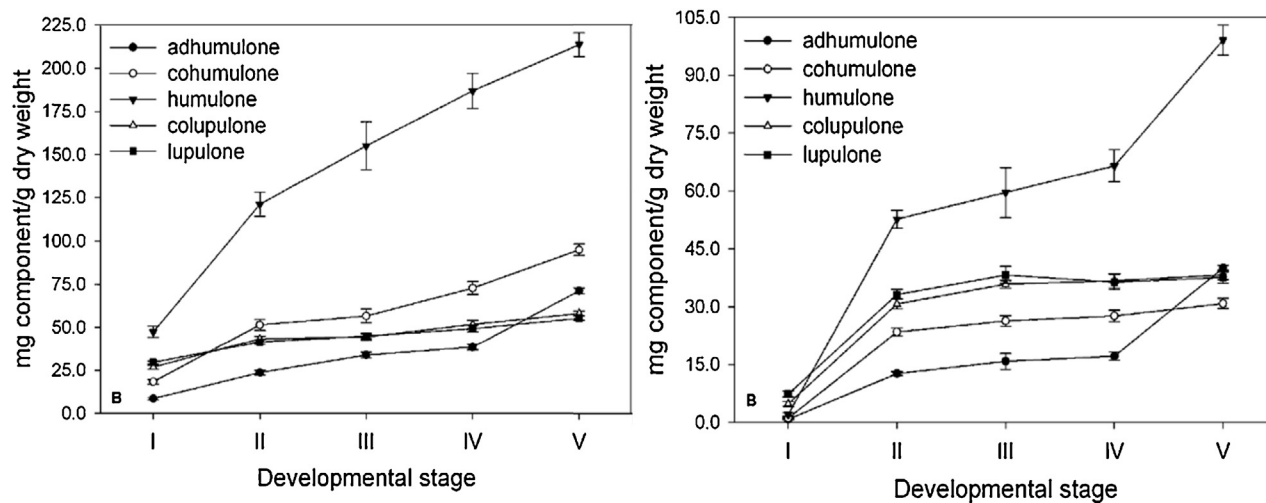


Fig. 4. Quantification des humulone, adhumulone, cohumulone, lupulone et colupulone au cours du développement des inflorescences femelles: Stade I, sénescence du stigmate; Stade II, élongation des bractées et apparition des trichomes; Stades III-V, remplissage des trichomes par les sécrétions, Stade V: cône mature avec trichomes remplis, bractées et bractéoles à taille adulte. Variété Zeus (gauche) et Willamette (droite) (Kavalier et al., 2011).

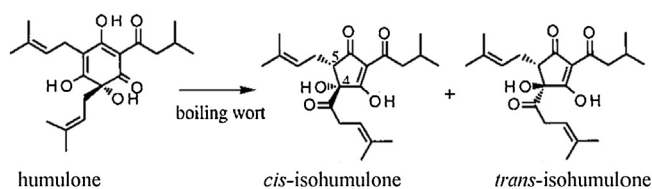


Fig. 5. Réaction d'isomérisation de l'humulone pendant l'ébullition.

menée à haute température. L'énergie d'activation nécessaire à la formation du *cis* est de 9 kJ/mol supérieure à celle menant à la forme *trans* (Jaskula et al., 2008). La *trans*-isohumulone est plus hydrophobe et dès lors, davantage retrouvée dans la mousse (Kappler et al., 2010). Les formes *cis* présentent l'avantage d'être plus amères et plus stables dans le temps (Nimubona, 2010; Hughes et Simpson, 1996). Les *cis/trans*-isohumulones et *cis/trans*-isocohumulones représentent chacun autour de 40% des acides iso- α , les *cis/trans*-isoadhumulones ne représentant qu'environ 16% du total (Intelmann et al., 2009). Les isohumulones sont plus amères que les isocohumulones (seuils de perception respectivement de 5 et 7 mg/L) (Hughes, 2000; Baxter et Hughes, 2001).

Les allo-isohumulones sont obtenus par déplacement de la double liaison de la chaîne latérale isohexényle des isohumulones. Ils peuvent atteindre 4 à 5% de l'isohumulone à haut pH. De l'isobutanol et de l'acide acétyl humulinique sont ensuite produits par rétroaldolisation (Fig. 6) (Goldstein et al., 1988).

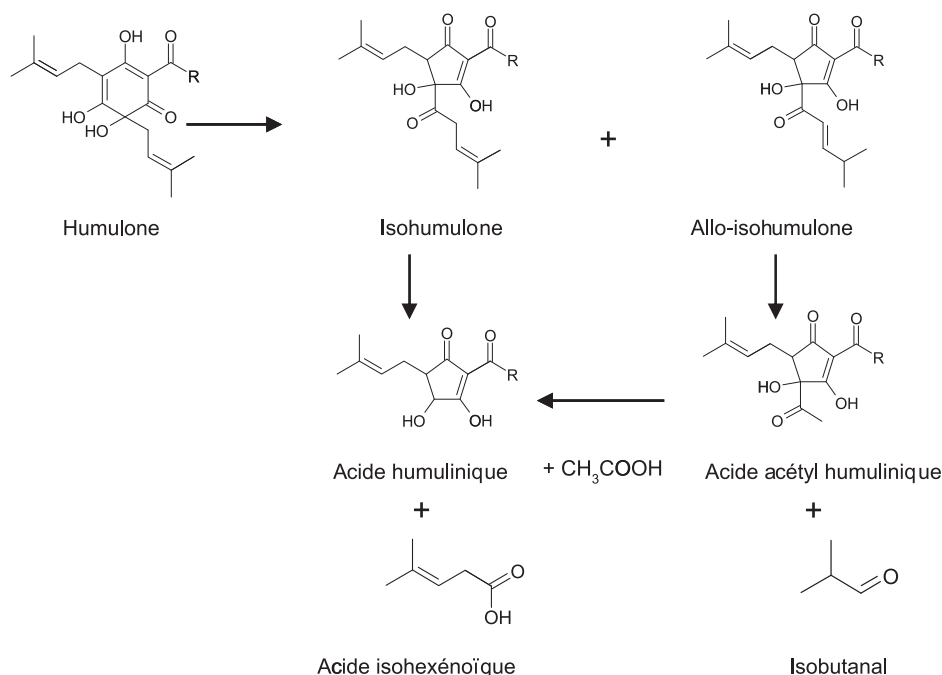


Fig. 6. Isomérisation et hydrolyse de l'humulone (Hough et al., 1982).

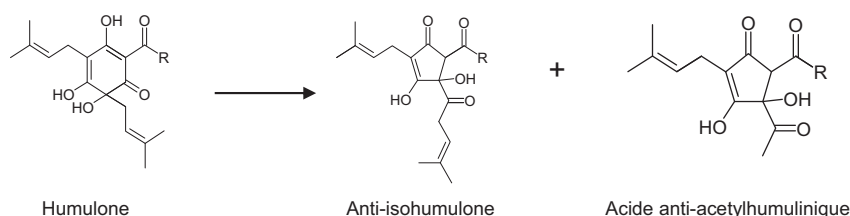


Fig. 7. Formation de l'anti-humulone et de l'acide anti-acétylhumulinique à partir de l'humulone (Briggs et al., 1982).

L'isomérisation des acides α mène également aux acides anti-isohumulone, deux fois plus amers que les isohumulones, et à l'acide anti acétylhumulinique (Blondeel et De Keukeleire, 1979; Verzele et De Keukeleire, 1991- Fig. 7).

Pour augmenter les rendements d'isomérisation, on peut aussi appliquer un traitement alcalin au potassium (à chaud) ou à l'oxyde de magnésium (à froid). Des rendements de 95% peuvent ainsi être atteints (Verzele, 1986).

La réaction d'isomérisation suit une cinétique de premier ordre (Fig. 8) (Malowicki et Shellhamer, 2005). L'énergie d'isomérisation est inférieure à celle de dégradation (respectivement 98,6 et 108,0 kJ/mole). Les auteurs ne précisent pas l'identité des produits de dégradation. Les acides α non isomérisés résiduels sont principalement perdus dans le trub (amas protéique) et les kräusens (effervescence mousseuse en fermentation) (Esslinger et Narziss, 2012).

La finesse de l'amertume des isohumulones est dépendante des pKa: 3.1 pour la *trans*-isohumulone, 4.7 pour l'isocohumulone, 5.0 pour l'humulone, et 6.1 pour la colupulone (plus agressive) (Wackerbauer et Balzer, 1993). Les cohumulones sont peu appréciées, surtout en houblonnage à cru. Moins apolaires, ils peuvent pourtant constituer jusqu'à 50% des acides α de la bière, profitant d'un taux de transfert supérieur dans le moût (De Keukeleire et al., 1993). Les isohumulones sont tous présents sous forme de sels solubles dans la bière (pH 4.2) (Simpson et Smith, 1992).

L'effet bactériostatique des acides α se limite aux microorganismes gram-positifs incluant les bactéries lactiques des genres *Lactobacillus* et *Pediococcus*, responsables de 70% des problèmes

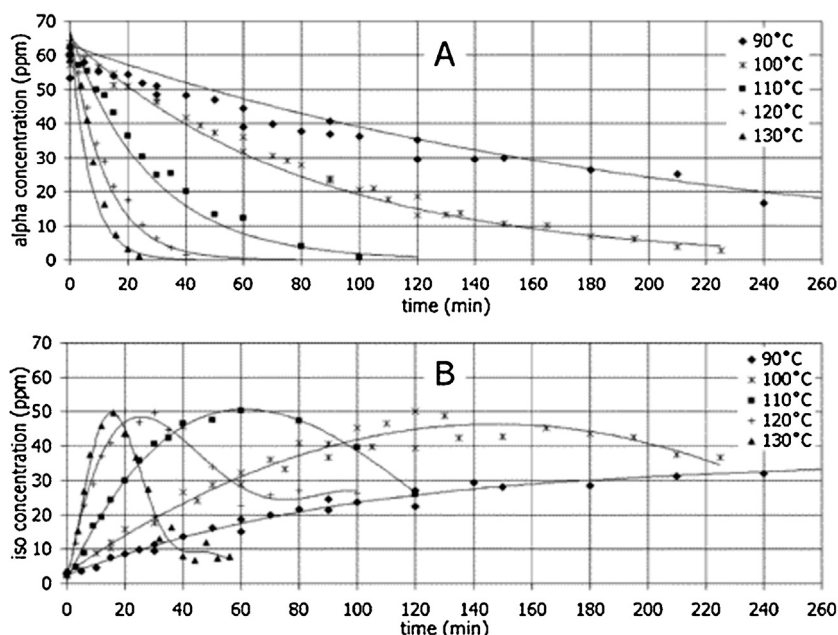


Fig. 8. Evolution des concentrations en acides α (A) et iso- α (B) durant l'ébullition dans un tampon acétate porté à pH 5,2 (Malowicki et Shellhamer, 2005).

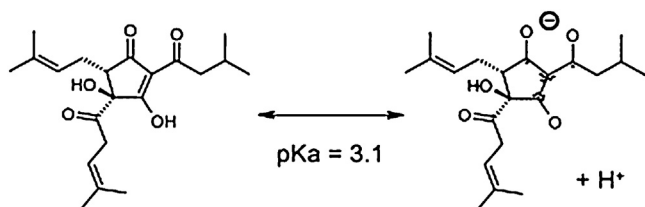


Fig. 9. Dissociation de la trans-isohumulone dans une cellule bactérienne (Fernandez et Simpson, 1995).

microbiologiques de la bière (Back, 1994). Les gram-négatifs tels que *Pectinatus spp.* ne voient pas leur croissance inhibée. Les isohumulones agissent comme des ionophores. Au pH intracellulaire, ils subissent une dissociation en (H^+) -isohumulone (Fig. 9), formant un complexe avec les ions divalents tels que le magnésium, et sont massivement exportés en dehors de la cellule bactérienne

(Simpson et Hughes, 1993). Il en résulte une diminution du gradient transmembranaire ainsi que des fuites de saccharides et d'acides aminés à travers la membrane cytoplasmique (Teuber et Schmalreck, 1973).

Des isomères «artificiels» aux potentialités supérieures

Afin d'éviter l'apparition du «goût de lumière» dans la bière, les fournisseurs de houblon peuvent procéder à des hydrogénations et/ou réductions des isohumulones au $NaBH_4$ (Fig. 10). On obtient ainsi les dihydroisohumulones par réduction du carbonyle de la chaîne isohexényle branchée en C4 (2 atomes d'hydrogène incorporés), les tétrahydroisohumulones obtenus par hydrogénation des insaturations sur la chaîne isoprène latérale (2 x 2 atomes d'hydrogène incorporés), et les hexahydro-isohumulones par réduction et hydrogénation (6 atomes d'hydrogène incorporés) (De Keukeleire et al., 1999; Moir, 2000 - Fig. 10).

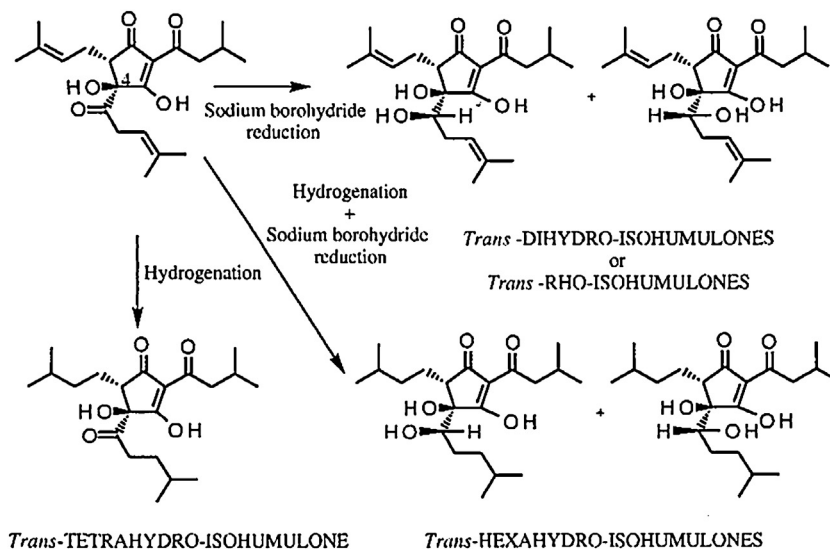


Fig. 10. Production des isohumulones réduites (De Keukeleire, 1999).

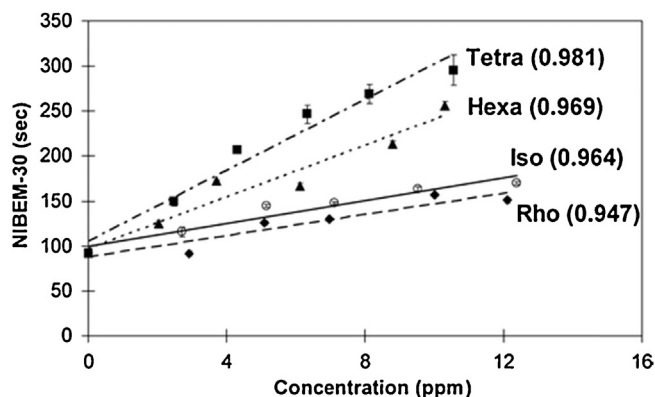


Fig. 11. Régression linéaire entre la concentration en acides iso- α et l'indice NIBEM-30 (temps de tenue de mousse sur 30 mm) des formes iso, rho, hexa et tétra (Kunimune et Shellhammer, 2008).

Les tétra- et hexa- hydroisohumulones, plus hydrophobes, sont intéressants car non seulement très amers mais aussi favorables à l'obtention d'une belle mousse (Fig. 11) (Kunimune et Shellhammer, 2008).

Les acides beta

Les acides *beta* ou lupulones (Fig. 2) présentent les mêmes chaînes latérales R que leurs analogues *alpha*, mais leur seconde chaîne isoprène sur le cycle les prive d'une fonction *alpha*-hydroxycétone impliquée dans la précipitation à l'acétate de plomb (Hayduck, 1888; Moir, 2000). Ils sont formés au tout début de la floraison, avant les humulones (De Keukeleire et al., 2003), mais leur teneur se voit rapidement dépassée par celle des acides *alpha*. Par leur faible solubilité, les acides *beta* sont majoritairement perdus dans le trub (Esslinger et Narziss, 2012). Les isolupulones, formés à l'état de traces, sont par contre plus solubles que les isohumulones.

Les propriétés bactériostatiques de la lupulone sont supérieures à celles des humulones (Gouin, 1958). La sélection de variétés riches en acides *beta* est aujourd'hui intégrée dans les programmes de sélection. Les lupulones, associées au xanthohumol ou à des antibiotiques (néomycine et polymyxine B sulphate), permettent de combattre efficacement les bactéries gram positives et certaines gram négatives. Ces lupulones peuvent dès lors être valorisées dans des projets d'amélioration de la qualité microbiologique de nourritures animales (Natarajan et al., 2008; Siragusa et al., 2008).

L'oxydation des lupulones durant l'ébullition mène aux hulupones (10% des lupulones) plus solubles et à l'amertume prononcée; elles peuvent représenter jusqu'à 5% de l'amertume de la bière (De Keukeleire et al., 1999). Ces hulupones peuvent aussi être obtenues par photooxydation au départ d'extraits contenant des lupulones (Kalamazoo Spice Extract, 1969).

L'activité antioxydante des résines molles

Les résines molles et leurs produits de transformation présentent des propriétés antioxydantes intéressantes. Par mesure des activités inhibitrices de la peroxydation des lipides, l'ordre suivant est observé: acides *alpha* > acides *beta* > acides iso-*alpha* > acides tétrahydro-iso-*alpha* > acides dihydro-iso-*alpha* > acides hexahydro-iso-*alpha*. Les acides *alpha* et *beta* sont de bons inhibiteurs de radicaux libres alors que les formes réduites présentent des capacités réduites à cet égard.

Résines dures

Les résines dures représentent 3% de la masse du cône (De Keukeleire, 1993). On distingue les résines *gamma* et les résines *epsilon*. Ces deux fractions apportent de l'amertume à hauteur de 12% de ce qu'apportent les humulones (Esslinger et al., 2012). De nombreuses chalcones telles que le xanthohumol, le desméthylxanthohumol, et leurs dérivés isoxanthohumol, 6-prénylnaringénine et 8-prénylnaringénine, moins polaires, se retrouvent dans les extraits de résine dure (résines *epsilon*).

Les acides organiques de la baie de raisin

Evolution des monosaccharides et des acides organiques

La baie est alimentée au travers du pédicelle par un système vasculaire double. Le xylème transportant l'eau et les minéraux venant des racines est fonctionnel dès les premiers stades du développement jusqu'à la véraison (Greespan et al., 1994). Cette première période est caractérisée par la division des cellules et l'accumulation de l'acide tartrique dans les vacuoles, diminuant considérablement le pH (Ollat et al., 2002).

S'ensuit l'accumulation des tannins et hydroxycinnamates. Le sucrose issu de la photosynthèse en provenance des feuilles par l'intermédiaire du phloème est inverti en fructose et glucose par les invertases du péricarpe; l'activité de ces enzymes atteint son maximum à la véraison (environ 60 jours post-floraison - Greenspan et al., 1994) (Fig. 12). Au cours de cette première phase, le phosphoenolpyruvate, intermédiaire de la glycolyse, est successivement *beta*-carboxylé par la phosphoenolpyruvate carboxylase, et réduit en acide malique par la malate déshydrogénase (Hawker, 1969; Ruffner et al., 1983). L'acide malique alors accumulé devient le soluté le plus abondant de la baie (Gutierrez-Granda and Morrison, 1992) (Fig. 13).

Pour faire face à une demande de substrat respiratoire, l'acide malique est dégradé par l'enzyme malique (ME) pour régénérer du pyruvate. La réaction inverse de la malate déshydrogénase est également suspectée (Diakou et al., 1997). Les teneurs finales en acides malique et tartrique les rendent majoritaires (ex.: de 10 à 78 méq/L pour l'acide tartrique et de 26 à 65 méq/L pour l'acide malique dans les Cabernet Sauvignon de Margaux) (Ruffner, 1982). La part d'acide malique par rapport à celle d'acide tartrique varie considérablement selon le cépage.

A l'approche de la maturité, le phloème continue d'alimenter la baie, laquelle par sa transpiration élimine de grandes quantités d'eau, permettant ainsi l'accumulation de solutés (McCarthy et Coombe, 1999). L'augmentation de la teneur en sucre n'est donc plus accompagnée d'une augmentation du volume; parfois une réduction est même observée (particulièrement pour les baies de Syrah) (Davies and Robinson, 1976). A la récolte, 15–20% du poids de la baie sont constitués de monosaccharides, contribuant au caractère juteux et attractif du fruit pour la faune (Coombe, 1976). Les dosages de l'acidité et du sucre constituent dès lors des éléments clés dans le choix du moment de la récolte.

Cas particulier de la surmaturation et de la botrytisation

Botrytis cinerea est un champignon se développant sur des grains de raisin surmaturés, en période automnale (brumes matinales rencontrées près des cours d'eaux). Le champignon attaque la baie par une intense macération enzymatique entraînant la perte de l'intégrité de la pellicule (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Il consomme une partie de l'eau contenue dans la baie, une autre partie s'évaporant à travers la pellicule devenue perméable. Le cépage *Sémillon* dont la peau est particulièrement fine constitue un

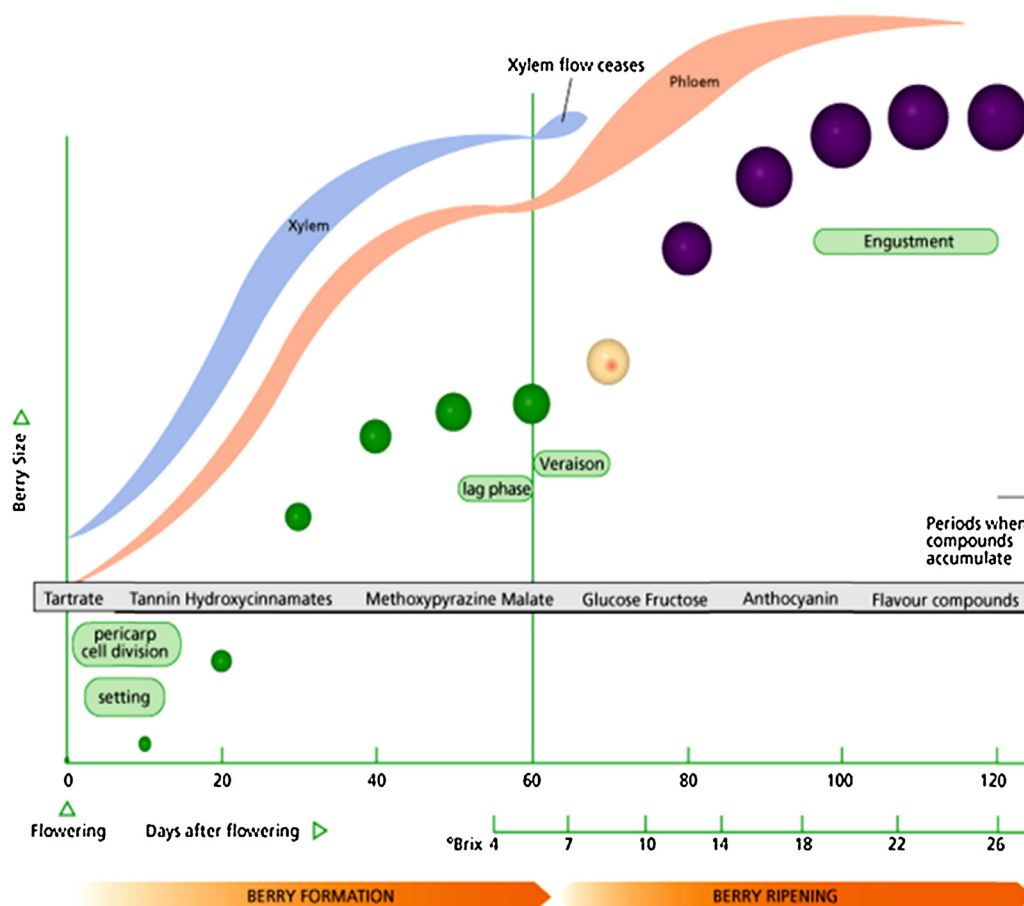


Fig. 12. Diagramme de l'évolution de la taille et de la couleur de la baie. Accumulation des solutés majeurs de la floraison à la pleine maturité (Coombe et Clancy, 2001).

excellent candidat à cette infection. Les baies surmûries deviennent violacées et leur pulpe se dore. Les sucres, les acides organiques et le glycérol sont concentrés. Certains sucres oxydés tels que l'acide gluconique issu du glucose, font leur apparition (Sponholz et Dittrich, 1985; Minguez et al., 2004). Au moment de la récolte, les viticulteurs s'attachent à sélectionner les grains dits « pourris pleins » ou « nobles » car dans une grappe, la botrytisation n'est ni uniforme, ni synchronisée (elle peut s'étaler sur une période de 3 à 5 semaines).

Les acides organiques en œnologie

Les acides organiques du raisin se retrouvent dans le vin. Outre leur impact sur le goût, ils influencent la couleur et les performances de fermentation. Ces acides peuvent poser des problèmes d'ordre organoleptique (visuels et gustatifs). Une pratique au chai permet de réduire leur impact par l'intervention de bactéries anaérobiques actives à des teneurs en éthanol élevées et un pH bas (conditions en fin de fermentation) (Henick-Kling, 1993). *Oenococcus oeni* est la plus adaptée pour mener cette fermentation « malolactique » (MLF) durant laquelle la malate décarboxylase convertit l'acide L-malique (Fig. 14) en acide L-lactique (Kunkee, 1967), plus agréable en bouche (Fig. 15). Il apporte également de la stabilité au vin. Cette fermentation secondaire présente d'autres intérêts, notamment celui de la dégradation de l'acide citrique dans sa dernière phase, privant ainsi de cette source d'énergie d'autres microorganismes tels que les lactobacilles susceptibles d'altérer l'intégrité du produit (Gao et Fleet, 1994). Au cours de cette MLF, une production d'acide acétique est observée, contribuant au bouquet et à l'acidité volatile perçus.

L'acide tartrique (Fig. 14) n'est pas métabolisé au cours de cette MLF; seules les lactobacilles peuvent le dégrader, générant de l'acide acétique, lactique et succinique (Dittrich, 1987). A basse température, l'acide tartrique peut former un sel de potassium bitartrique (KHT) insoluble (Berg et Keefer, 1958; Ratsimba et Gaillard, 1989) entraînant des dépôts dans le fond des bouteilles. Les œnologues remédient à ce problème par addition d'acide métatartrique (Celotti et al., 1999; Goertges et Stock, 2000; Ribéreau-Gayon et al., 1977), par échange de protons (Mourgues, 1993) ou par électrodialyse permettant d'éliminer une partie des ions K^+ et Ca^{2+} (Ribéreau-Gayon et al., 2000). La méthode la plus répandue consiste à maintenir le vin proche du point de congélation afin de provoquer la formation du cristal (Blouin et al., 1982). Si cette méthode a fait ses preuves pour les vins blancs, elle est hélas inefficace dans le cas des vins rouges ou moelleux, notamment en raison de teneurs importantes en polyphénols, colloïdes, et polysaccharides, inhibant la croissance provoquée du cristal de KHT (Serrano et al., 1983; Celotti et al., 1999).

L'acide tartrique serait avec l'éthanol, un stimulateur de la sécrétion salivaire (Martin et Pangborn, 1971). Cette sécrétion a pour conséquence de diminuer considérablement l'intensité de l'astringence perçue, ce qui présente un intérêt certain dans le cas des vins tanniques (Nayak et Carpenter, 2008).

Les matières azotées

Entre 50 et 90% de l'azote total du raisin sont sous une forme soluble. La proline et l'arginine sont les acides aminés majoritaires, pouvant atteindre 2 g/L (Ollat et al., 2002; Bell et Henschke, 2005). Alors que les cépages tels que le Cabernet Sauvignon et

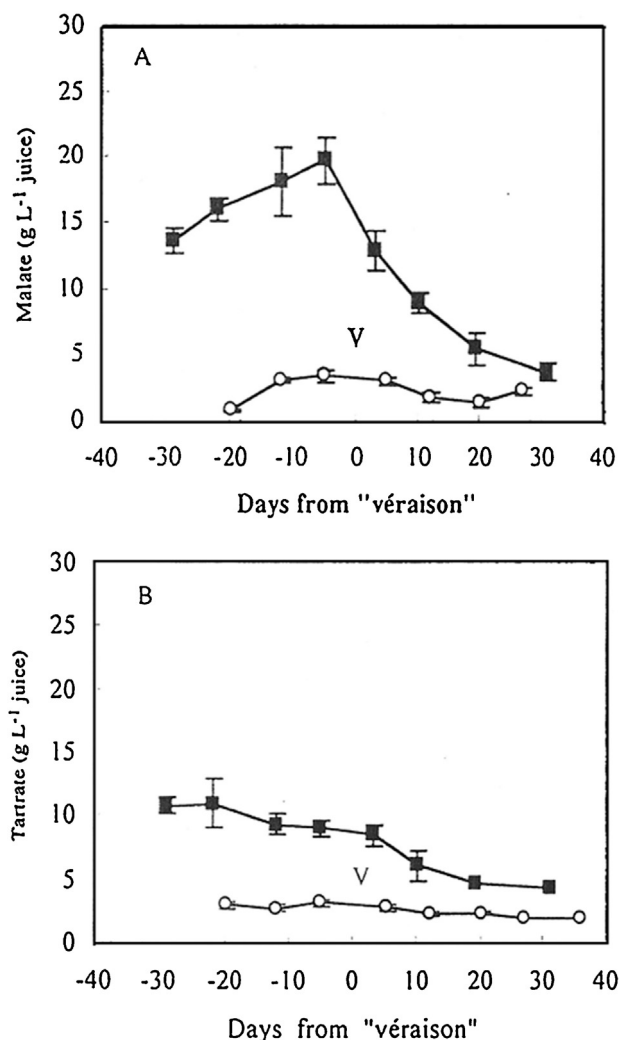


Fig. 13. Evolution des teneurs en acide malique (A, haut) et tartrique (B, bas) du jus pendant le développement des baies de Cabernet sauvignon (carrés pleins) et de Gora chirine (cercles vides) (Diakou et al., 1997).

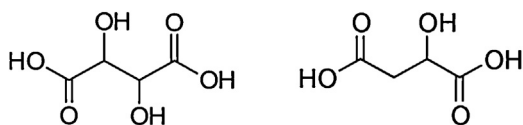


Fig. 14. Structures des acides tartrique (gauche) et malique (droite).

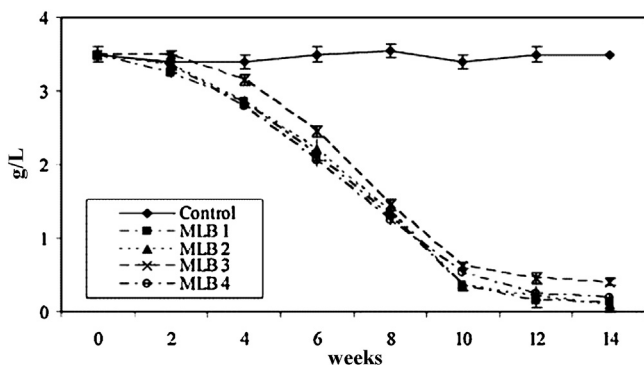


Fig. 15. Evolution de l'acide malique durant la fermentation malolactique en présence de diverses préparations bactériennes commerciales (Ugliano et Moio, 2005).

le Chardonnay procurent des baies riches en proline, le Gewürztraminer et le Muscat Gordo sont des cépages riches en arginine (Ollat et al., 2002). La différence apparaît au cours du mûrissement: dans le premier cas, l'arginine atteint un maximum, avant de diminuer lentement, alors que la proline s'accumule jusqu'à la récolte. Dans le second cas, c'est l'arginine qui augmente continuellement (Stines et al., 2000). Des interconversions d'arginine en proline ou le stockage de certains acides aminés en fin de saison dans les racines seraient à l'origine de ces évolutions (Bell et Henschke, 2005). Les cépages donnant des baies riches en proline constituent de pauvres contributeurs en acides aminés assimilables par la levure. L'ammonium devient alors la source assimilable majoritaire, celle-ci pouvant représenter jusqu'à 53% (Cabernet Sauvignon) et 32% (Gewürztraminer) de l'azote disponible dans le jus (Bell, 1994; Bell et Henschke, 2005; Huang et Ough, 1989).

La littérature scientifique fournit très peu de données sur les matières azotées du houblon. Il est cependant établi que trente à cinquante pourcents de l'azote de la plante sont retrouvés dans les cônes, l'asparagine représentant l'acide aminé majoritaire. La fertilisation azotée a un effet important sur le rendement de production des cônes (Gingrich et al., 2000). La teneur en protéines des cônes peut atteindre 15% (m/m) de matière sèche et la composition en protéines varie en fonction de la variété de houblon (Gastl et al., 2012). Plusieurs protéines fonctionnelles dont les enzymes impliquées dans les métabolismes primaires et secondaires sont retrouvées dans le houblon. La cellulose synthase impliquée dans la synthèse de la cellulose et la chalcone synthase dans la synthèse des flavonoïdes, en sont des exemples. Les protéines structurales du houblon sont moins connues. Oosterveld et al., 2002 identifient une protéine-arabinogalactane (AGP) dans un extrait de pectine issu des spents du houblon (résidu de l'extraction au CO₂ supercritique). Cette protéine-arabinogalactane, liée à la pectine présente dans les parois cellulaires, contient majoritairement de la cystéine, de la thréonine, de la sérine, de l'alanine et de l'hydroxyproline. La composition en acides aminés de cette partie protéique ressemble à celle des AGP retrouvées dans les parois cellulaires d'autres plantes telles que la rose et le tabac (Oosterveld et al., 2002).

Les polysaccharides

Les parois des cellules végétales de la baie de raisin, essentielles à la résistance mécanique, sont faites d'un réseau de cellulose attaché à une matrice polysaccharidique hémicellulosique (essentiellement des polymères de xyloglucanes). Un second domaine plus soluble est fait de polysaccharides pectiques, riches en acide galacturonique (GalA) (Rose et Bennett, 1999). Au moment du mûrissement des baies, les pectines sont dépolymérisées et solubilisées par des enzymes hautement induites au moment de la véraison (Huber, 1983). Deux activités hydrolases jouent un rôle prépondérant: la pectine méthylestérase et la polygalacturonase. Cette intense modification des parois a pour conséquence un assouplissement de la baie (Deytieux-Belleau et al., 2008). Ce phénomène de solubilisation est d'une importance capitale dans la mesure où, à la différence des cônes dont les composés d'intérêt se situent dans des structures sessiles (glandes lupulines non attenantes), de nombreux composants d'intérêt œnologique se trouvent dans ce réseau (composés phénoliques, précurseurs d'arômes) (Kammerer et al., 2004; Chamorro et al., 2012).

Dans les cônes de houblon, la lignine (22% de matière sèche) et la cellulose (13% de matière sèche) participent à la rigidité des parois cellulaires (Angell et Norris, 1936). Des pectines (< 2%) sont également présentes. Une analyse de la composition en sucres contenus dans les spents du houblon indique des teneurs élevées en glucose (15,3%) et en acide uronique (12,9%). Le xylose (3,7%), le galactose

(2,2%), l'arabinose (1,9%), le mannose (1,4%) et le rhamnose (0,9%) sont retrouvés en teneurs plus faibles. (Oosterveld et al., 2002).

Les lipides

Les lipides contenus dans la baie de raisin se retrouvent essentiellement dans les pépins (16%). La peau et la pulpe du raisin n'en contiennent que 0,5% (Zironi et al., 1934). L'huile de pépins de raisin est riche en acides gras insaturés dont la teneur peut atteindre 90%. Cette huile contient 66 à 70% d'acide linoléique, 13,7 à 21,5% d'acide oléique, 5,8 à 7,7% d'acide palmitique et 2,5 à 3,5% d'acide stéarique (Matthäus, 2008; Mironeasa et al., 2010).

La littérature scientifique fournit peu de donnée sur la composition des lipides du houblon. Ceux-ci peuvent atteindre jusqu'à 4,5% de matière sèche (Anness et Reud, 1985). Contrairement aux lipides du houblon, l'huile de pépins de raisins peut directement être utilisée en alimentation humaine. Les lipides du houblon ont un effet bénéfique sur la croissance de la levure lors de la fermentation du moût de bière. Certains anti-mousse naturels contiennent une fraction lipidique de la fleur de houblon (Marriott, 2007).

References

- Angell, S., Norris, F.W., 1936. Studies on hemicelluloses: The hemicelluloses of the flower of the hop (*Humulus lupulus*). *Biochemical Journal* 30, 2159–2165.
- Anness, B.J., Reud, R.J.R., 1985. Lipids in wort. *Journal of the Institute of Brewing* 91, 313–317.
- Back, W., 1994. Secondary contamination in the filling area. *Brauwelt International* 4, 326–328.
- Baxter, D.E., Hughes, P.S., 2001. Beer: quality, safety and nutritional aspects, 136–138.
- Bell, S.J., 1994. The effect of nitrogen fertilisation on the growth, yield and juice composition of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon grapevines. Department of Soil Science and Plant Nutrition. The University of Western Australia, PhD Thesis.
- Bell, S.J., Henschke, P.A., 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 11, 242–295.
- Berg, H.W., Keefer, R.M., 1958. Analytical determination of tartrate stability in wine, I Potassium bitartrate. *American Journal of Enology and Viticulture* 9, 180–193.
- Blondeel, G.M.A., De Keukeleire, D., 1979. *Tetrahedron Letters*, 1343–1346.
- Blouin, G., Guimbeteau, Audouit, P., 1982. Prévention des précipitations tartriques dans les vins par le procédé par contact. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 16, 63–77.
- Celotti, E., Borna, L., Zoccolan, E., 1999. Evaluation of the electrical properties of some products used in the tartaric stabilization of wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 50, 343–350.
- Chamorro, S., Viveros, A., Alvarez, I., Vega, E., Brenes, A., 2012. Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. *Food Chemistry* 133, 308–314.
- Coombe, B.G., 1976. The development of fleshy fruits. *Annual Review of Plant Physiology* 27, 507–528.
- Davies, C., Robinson, S.P., 1976. The development of fleshy fruits. *Annual Review of Plant Physiology* 27, 207–228.
- De Keukeleire, D., 1993. The effects of hops on flavour stability and beer properties. *Cerevisia* 18, 33–46.
- De Keukeleire, D., De Cooman, L., Ring, H., Heyerick, A., Kalita, J., Milligan, S.R., 1999. Functional properties of hop polyphenols. *Plant Polyphenols 2: Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. Gross et al. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- De Keukeleire, J., Ooms, G., Heyerick, A., Roldan-Ruiz, I., Van Bockstaele, E., De Keukeleire, D., 2003. Formation and accumulation of α -acids, β -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (15), 4436–4441.
- Deytieu-Belleau, C., Vallet, A., Donèche, B., Geny, L., 2008. Pectin methylesterase and polygalacturonase in the developing grape skin. *Plant Physiology and Biochemistry* 46 (7), 638–646.
- Diakou, P., Moing, A., Svanella, L., Ollat, N., Rolin, D.B., Gaudillere, M., Gaudillere, J.P., 1997. Biochemical comparison of two grape varieties differing in juice acidity. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 3, 1–10.
- Dittrich, H.H., 1987. *Mikrobiologie des Weines. Handbuch der Lebensmitteltechnologie*, 2nd edn. Stuttgart, Ulmer.
- Drawert, F., Beier, J., 1976. Monoprenylated acylphloroglucinols. *Phytochemistry* 15, 1695–1696.
- Esslinger, H.M., Narziss, L., 2012. *Beer*, 5. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp. 177–183.
- Favier, V., Chanzy, H., Cavaille, J.Y., 1995. Polymer nanocomposites reinforced by cellulose whiskers. *Macromolecules* 28, 6365–6367.
- Forster, A., 1978. The pelletizing of hop powder for optimum product conservation. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly* 15, 163–167.
- Gao, C., Fleet, G.H., 1994. The degradation of malic acid by high density cell suspensions of *Leuconostoc oenos*. *Journal of Applied Bacteriology* 76, 632–637.
- Gastl, M., Neugrodd, C., Becker, T., 2012. The role of “unknown” hop proteins. *World Brewing Congress 2012*, Portland, Oregon, U.S.A.
- Goertges, S., Stock, R., 2000. *Deutsche-Weinmagazin* 2, 24–28.
- Gingrich, C., Hart, J., Christensen, N., 2000. *Hops. Fertilizer Guide* 79, 1–2.
- Goldstein, H., Ting, P.L., Chicove, E., Goetzke, G., Cowles, J.M., 1988. U.S. Patent No. 4,767,640.
- Gouin, F., 1958. Die hopfenbitterstoffe als antibiotica. *Brauwissenschaft* 11, 230–231.
- Greenspan, M.D., Schackel, K.A., Matthews, M.A., 1994. Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. *Plant Cell and Environment* 17, 811–820.
- Gutierrez-Granda, M., Morrison, J.C., 1992. Solute distribution and malic enzyme activity in developing grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture* 43 (4), 323–328.
- Hawker, J.S., 1969. Changes in the activities of enzymes concerned with sugar metabolism during development of grape berries. *Phytochemistry* 8, 9–17.
- Hayduck, F., 1888. Making tetrahydroisovalpha acids and hexahydroisovalpha acids by catalytic reduction and isomerisation. *Wichschr. Brau*, 937.
- Henick-Kling, T., 1993. Malolactic fermentation. In: Fleet, G.H. (Ed.), *Wine Microbiology and Biotechnology*. Camberwell, Victoria, Harwood, pp. 289–326.
- Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R., 1971. *Malting and Brewing Science*, 2. Chapman & Hall, London, pp. 324.
- Huang, Z., Ough, C.S., 1989. Effect of vineyard locations, varieties and rootstocks on the juice amino acid composition of several cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture* 40, 135–139.
- Huber, D.J., 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews* 5, 169–215.
- Hughes, P.S., Simpson, W.J., 1993. Production and composition of hop products. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly* 30, 146–154.
- Hughes, P.S., Simpson, W.J., 1996. Bitters of congeners and stereoisomers of hop-derived bitter acids found in beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 54, 234–237.
- Hughes, P.S., 2000. The significance of iso- α -acids for beer quality. *Cambridge prize paper. Journal of the Institute of Brewing* 106 (5), 271–276.
- Intelmann, D., Batram, C., Kuhn, C., Heseleu, G., Meyerhof, W., Hofmann, T., 2009. Three TAS2R bitter taste receptors mediate the psychophysical responses to bitter compounds of hops (*Humulus lupulus* L.) and beer. *Chemosensory Perception* 2, 118–132.
- Jaskula, B., Kafarski, P., Aerts, G., De Cooman, L., 2008. A kinetic study on the isomerization of hop α -acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 13, 6408–6415.
- Kalamazoo Spice Extract, 1969. Hop flavours for malt beverages and the like - United Kingdom Patent GB1 145, 240.
- Kammerer, D., Claus, A., Carle, R., Schieber, A., 2004. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 4360–4367.
- Kappler, S., Schönberger, C., Krottenthaler, M., Beckers, T., 2010. Isohumulones a review. *Brewing Science* 63, 105–111.
- Kavalier, A.R., Litt, A., Ma, C., Pitra, N.J., Coles, M.C., Kennelly, E.J., Matthews, P.D., 2011. Phytochemical and morphological characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) cones over five developmental stages using high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, ultrahigh performance liquid chromatography photodiode array detection, and light microscopy techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 4783–4793.
- Kunimune, T., Shellhammer, T.H., 2008. Foam-stabilizing effects and cling formation patterns of iso- α -acids and reduced iso- α -acids in lager beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 8629–8634.
- Kunkee, R.E., 1967. Malolactic fermentation. *Advances in Applied Microbiology* 9, 235–279.
- Lermusieau, G., Collin, S., 2002. Hop aroma extraction and analysis. In: Jackson, J.F., Linskens, H.F., Inman, R.B. (Eds.), *Molecular Methods of Plant Analysis*, 21. Springer Verlag, Berlin, Germany, pp. 69–88.
- Lintner, C.J., Schnell, J., 1904. To the knowledge of the bitter principles of the hops. *Zeitschrift Ges. Brauw.* 27, 666–669.
- Malowicki, G., Shellhamer, T.H., 2005. Isomerization and degradation kinetics of hop (*Humulus lupulus*) acids in a model wort boiling system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (11), 4434–4439.
- Marriott, R.J., 2007. Antifoam agent from hop extract. Brevet n° WO 2007096673 (A1): Angletterre.
- Martin, S., Pangborn, R.M., 1971. Human parotid secretion in response to ethyl alcohol. *Journal of Dental Research* 50, 485–490.
- Matousek, J., Novak, P., Patzak, J., Briza, J., Krofta, K., 2002. Analysis of true chalcone synthase from *Humulus lupulus* L. and bio- technology aspects of medicinal hops. *Rostl. Vyroba* 48 (1), 7–14.
- Matthäus, B., 2008. Virgin grape seed oil: is it really a nutritional highlight? *European Journal of Lipid Science and Technology* 110, 645–650.
- McCarthy, M.G., Coombe, B.G., 1999. Is weight loss in ripening grape berries cv. Shiraz caused by impeded phloem transport? *Australian Journal of Grape and Wine Research* 5, 17–21.
- Minguez, S., Cantus, J.M., Pons, A., Margot, P., Cabanes, F.X., Masqué, C., Accensi, F., Elorduy, X., Giral, L.L., Vilavella, M., Rico, S., Domingo, C., Blasco, M., Capdevila, J., 2004. Influence of the fungus control strategy in the vineyard on the presence of Ochratoxin A in the wine. *Bulletin de l'OIV*, 885–886.

- Mironeasa, S., Leahu, A., Codina, G., Stroe, S., Mironeasa, C., 2010. Grape seed: physicochemical, structural characteristic and oil content. *Journal of Agroalimentary Process and Technologies* 16, 1–6.
- Moir, M., 2000. Hops – a millennium review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 58, 131–146.
- Mourgues, J., 1993. Utilisation des résines échangeuses d'ions. *Revue des Oenologues* 19, 51–54.
- Natarajan, P., Katta, S., Andri, I., Babu Rao Ambati, V., Leonida, M., Haas, G.J., 2008. Positive antibacterial co-action between hop (*Humulus lupulus*) constituents and selected antibiotics. *Phytomedicine* 15, 194–201.
- Nayak, A., Carpenter, G.H., 2008. A physiological model of tea-induced astringency. *Physiology and Behavior* 95 (3), 290–294.
- Nimubona, D., 2010. Doctoral thesis. Spain: University of Valla.
- Okada, Y., Yamazaki, Y., Suh, D.Y., Sankawa, U., Kazutoshi, I., 2001. Bifunctional activities of valerophenone synthase in hop (*Humulus lupulus* L.). *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 59, 163–166.
- Ollat, N., Diakou-Verdin, P., Carde, J.P., Barrieu, F., Gaudillère, J.P., Moing, A., Oosterveld, A., Voragen, A.G.J., Schols, H.A., 2002. Characterization of hop pectins shows the presence of an arabinogalactan-protein. *Carbohydrate Polymers* 49, 407–413.
- Peyrot des Gachons, C., Van Leeuwen, C., Tominaga, T., Soyer, J.P., Gaudillère, J.P., Dubourdieu, D., 2005. The influence of water and nitrogen on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv Sauvignon blanc in field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 73–85.
- Priest, M.A., Boersma, J.A., Bronczyk, S.A., 1991. Effects of aging on hops and liquid CO₂ extracts. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 49, 98–101.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Ribéreau-Gayon, P., Sudraud, P., 1977. Clarification et Stabilization. *Traité d'Oenologie. Sciences et techniques du vin*, 4.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A., 2006. *Handbook of Enology. The microbiology of wine and vinifications*, Vol 1. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.
- Ratsimba, B., Gaillard, M., 1989. Détermination de la stabilité des vins par le repérage de leur température de saturation., 114.
- Rigby, F.L., Bethune, J.L., 1952. Contercurrent distribution of hop constituents. *Proceedings of the American Society of Brewing Chemists*, 98–105.
- Rose, J.K.C., Bennett, A.B., 1999. Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: Parallels between cell expansion and fruit ripening. *Trends in Plant Sciences* 4, 176–183.
- Ruffner, H.P., 1982. Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis*: a review. *Vitis* 41, 346–358.
- Ruffner, H.P., Brem, S., Rast, D.M., 1983. *Plant Physiology* 73, 582.
- Serrano, M., Sudraud, P., Ribereau-Gayon, P., 1983. Prévention des précipitations tartriques dans les vins au moyen du traitement en continu par le froid. *Journal International des Science de la Vigne et du Vin* 2, 121–136.
- Simpson, W.J., Hughes, P.S., 1993. Cooperative binding of potassium ions to trans-isohumulone in the presence of divalent and trivalent cations. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 3, 769–772.
- Simpson, W.J., Smith, A.R., 1992. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. *Journal of Applied Bacteriology* 4, 327–334.
- Siragusa, G.R., Haas, G.J., Matthews, P.D., Smith, R.J., Buhr, R.J., Dale, N.M., Wise, M.G., 2008. Antimicrobial activity of lupulone against *Clostridium perfringens* in the chicken intestinal tract jejunum and caecum. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61, 853–858.
- Sponholz, W.R., Dittich, H.H., 1985. Über die herkunft von gluconsäure, 2- und 5-oxogluconsäure sowie glucuron- und galacturonsäure in mosten und weinen. *Vitis* 24, 51–60.
- Stines, A.P., Grubb, J., Gockowiak, H., Henschke, P.A., Høj, P.B., van Heeswijck, R., 2000. Proline and arginine accumulation in developing berries of *Vitis vinifera* L. in Australian vineyards: Influence of vine cultivar, berry maturity and tissue type. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6, 150–158.
- Teuber, M., Schmalreck, A.F., 1973. Membrane leakage in *Bacillus subtilis* 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone, isohumulone and humulic acid. *Archiv für Mikrobiologie* 94, 159–171.
- Tsurumaru, Y., Sasaki, K., Miyawaki, T., Uto, Y., Momma, T., Umamoto, N., Momose, M., Yazaki, K., 2012. HIPT-1, a membrane-bound prenyltransferase responsible for the biosynthesis of bitter acids in hops. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 417, 393–398.
- Ugliano, M., Moio, L., 2005. Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 10134–10139.
- Van Cleemput, M., Cattoor, K., De Bosscher, K., Haegeman, G., De Keukeleire, D., Heyerick, A., 2009. Hop (*Humulus lupulus*)-Derived Bitter Acids as Multipotent Bioactive Compounds. *Journal of Natural Products* 6, 1220–1230.
- Verzele, M., 1986. 100-Years of hop chemistry and its relevance to brewing. *Journal of the Institute of Brewing* 92, 32–48.
- Verzele, M., De Keukeleire, D., 1991. Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids. Elsevier, Amsterdam.
- Wackerbauer, K., Balzer, U., 1993. Hop bitter compounds in beer Part II: the influence of cohumulone on beer quality. *Brauwelt International* 11, 116–118.
- Zironi, R., Frega, N., Conte, L.S., Lercker, G., 1934. Effets de la pourriture acide sur la composition de la fraction lipidique des différentes parties du grain de *Vitis Vinifera* cv. Fortana. *Vitis* 23, 93–105.