

ÉTUDE, DANS LE RAISIN, DE L'ACTIVITÉ β -GLUCOSIDASE

C. BIRON, R. CORDONNIER, O. GLORY, Z. GUNATA et J.C. SAPIIS

Institut National de la Recherche Agronomique
Institut des Produits de la Vigne
Laboratoire des arômes et des substances naturelles
2, place Viala, 34060 Montpellier Cedex (France)

INTRODUCTION

De nombreux travaux ont mis en évidence le fait que l'arôme des Muscats est constitué d'une partie libre, volatile, odorante (USSEGLIO-TOMASSET, 1966; USSEGLIO-TOMASSET *et al.*, 1966; USSEGLIO-TOMASSET, 1969; BAYONOVE et CORDONNIER, 1971a et b; TERRIER, 1972; DIAZ-CERVANTES, 1979; WILLIAMS *et al.*, 1981) et d'une partie non volatile, non odorante qui constitue la partie liée. Celle-ci a été identifiée à des glycosides disaccharidiques dans lesquels la partie aglycone, formée principalement d'alcools terpéniques, de phényl-2 éthanol et d'alcool benzylique, est liée à une partie glucidique constituée d'un mélange complexe d' α -L-rhamnopyranosyl β -D-glucopyranose et d' α -L-arabinofuranosyl β -D-glucopyranose (CORDONNIER et BAYONOVE, 1974; WILLIAMS *et al.*, 1982, 1983; GUNATA, 1984; GUNATA *et al.*, 1985). Les travaux de GUNATA (1984) ont montré la forte proportion de la fraction liée par rapport à la fraction libre. Pour libérer cette fraction liée et assurer ainsi la révélation d'un important potentiel aromatique masqué, l'hydrolyse acide à chaud au pH du jus, peut être utilisée (CORDONNIER et BAYONOVE, 1974; USSEGLIO-TOMASSET et DI STEFANO, 1979, 1980; DI STEFANO, 1981; WILLIAMS *et al.*, 1981, 1982a et b); une voie enzymatique d'hydrolyse, moins destructive que l'hydrolyse acide a cependant été suggérée (CORDONNIER et BAYONOVE, 1974), mettant en œuvre des complexes enzymatiques à l'activité β -glycosidasique naturellement présents dans le raisin. Ces activités, qui ont fait l'objet de travaux préliminaires (GUNATA, 1984), restent cependant encore mal connues. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à la poursuite de leur étude.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les raisins utilisés proviennent soit du vignoble de la Compagnie des Salins du Midi (Domaine de Jarras, Aigues-Mortes, Gard) pour le Muscat d'Alexandrie, soit du vignoble INRA (Domaine du Chapitre, Villeneuve-les-Maguelonne, Hérault) pour les autres cépages. La plupart des essais ont été réalisés successivement pendant deux années, 1985 et 1986, sur des raisins provenant des mêmes cépages issus des

mêmes vignobles et cueillis aux mêmes stades d'évolution du fruit. Dans certains cas, les analyses ont été poursuivies sur des raisins issus de la période 1987.

Pour les essais de localisation de la β -glucosidase dans le raisin, les baies congelées de Muscat d'Alexandrie cueilli à maturité technologique (environ 200 g de sucres par litre de jus) sont fractionnées, après élimination des pépins, en leurs éléments constitutifs : pellicules, pulpe (matières solides du jus après pressurage de la baie dépelliculée), jus. La séparation entre la pulpe et le jus est faite par centrifugation (20.000 g, 5 minutes, + 2°C).

L'étude de la localisation de la β -glucosidase dans la feuille de vigne a été réalisée sur des feuilles de Muscat d'Alexandrie du 4^e rang à partir de la base du sarment cueillies au stade de la maturité technologique du raisin.

L'évolution de l'activité β -glucosidase au cours de la maturation a été suivie sur des raisins de Muscat d'Alexandrie cueillis à cinq stades correspondant à des étapes physiologiques différentes (tableau I).

TABLEAU I
Caractéristiques des stades de prélèvement
des raisins de Muscat d'Alexandrie au cours de la maturation

| Stade de développement de la baie | Date moyenne de cueillette | Composition moyenne du jus | |
|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | | Sucres (g/l) | Acidité de titration (méq/l) |
| Précoce | 25/07 | 90 | 400 |
| En cours de véraison | 5/08 | 110 | 300 |
| En fin de véraison | 15/08 | 150 | 180 |
| Maturité | 1/09 | 190 | 80 |
| Surmaturité | 1/10 | 220 | 70 |

Pour l'étude de la β -glucosidase dans différents cépages, ceux-ci ont été cueillis à maturité technologique, avec des taux de sucres qui seront précisés par ailleurs.

Tous ces divers matériels végétaux sont congelés dans l'azote liquide dès la cueillette et conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation.

II — PRÉPARATION DES POUDRES ACÉTONIQUES

En accord avec GUNATA (1984), 30 g de matériel végétal congelé sont finement broyés dans l'azote liquide au moyen d'un broyeur à bille de type Dangoumau. A la poudre ainsi obtenue on ajoute 120 ml d'acétone à -15°C afin de précipiter les protéines; on centrifuge (20.000 g, 15 minutes, 0°C) et on récupère le culot qu'on lave par l'éthanol à 75 p. 100 à -10°C; ce lavage, dont on a vérifié qu'il n'entraîne pas de diminution de l'activité β -glucosidase, permet d'éliminer un certain nombre d'impure-

tés. Il est en particulier indispensable dans le cas des raisins mûrs. On filtre (membrane Millipore, 0,45 μm) et on sèche sous vide le rétentat. On obtient une poudre homogène et stable, débarassée de la plus grande partie des composés phénoliques et des sucres initialement contenus dans le raisin. C'est ce matériel qui est utilisé par la suite comme matière première pour l'extraction de l'activité β -glucosidase.

III — MÉTHODES UTILISÉES

1) Préparation de l'extrait enzymatique

150 mg de poudre acétonique sont mis en suspension dans 15 ml de tampon phosphate-citrate 0,1 M pH 5,0 à + 4°C, additionnés de 20 mg d'acide ascorbique, de 0,2 ml de Tween 80 à 1,5 p. 100 dans l'eau et de 150 mg de Polyclar AT pour fixer les composés phénoliques résiduels. On ajuste le pH à la valeur 5,0 par addition de NaOH 1 N, on agite 15 minutes à + 4°C puis on centrifuge (20.000 g, 15 minutes, + 2°C). On récupère le surnageant qui constitue l'extrait enzymatique utilisé pour la détermination des activités β -glucosidase.

2) Mesure de l'activité β -glucosidase

L'activité β -glucosidase est mesurée, sur l'extrait enzymatique, au moyen du *p*-nitrophényl β -D-glucopyranoside (pNPG) comme substrat et dans les conditions de température et de pH définies par GUNATA (1984). Au cours de l'hydrolyse enzymatique il y a libération de *p*-nitrophénol (pNP) de couleur jaune en milieu alcalin dont on suit la cinétique d'apparition par mesure de l'absorbance du milieu à 405nm. Les conditions opératoires sont les suivantes.

A 2,5 ml d'une solution tampon phosphate-citrate 0,1 M pH 5,0 contenant 17 mM de pNPG, on ajoute 7,5 ml de solution enzymatique. Le mélange est placé au bain-marie à 40°C. Pendant 75 minutes, durée au cours de laquelle la quantité de pNP formé est proportionnelle à la durée de réaction, à intervalles réguliers, on prélève 1,5 ml de milieu réactionnel auxquels on ajoute 1,5 ml d'une solution de Na_2CO_3 0,2 M pH 10,2 pour stopper la réaction et produire une coloration jaune proportionnelle à la quantité de pNP libéré. L'intensité de cette coloration est mesurée au spectrophotomètre (Varian DMS 100) à 405 nm, dans des cuves de 1 cm de parcours optique. L'activité β -glucosidase est exprimée en nanomoles de pNP libérées par minute et par gramme de matériel végétal frais. Le coefficient d'extinction molaire du pNp est $\epsilon = 19.300 \text{ litre.mole}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. La répétabilité de la méthode est bonne : les valeurs des coefficients de variation sont 1,3 p. 100 pour l'extraction testée sur 7 mesures et 0,8 p. 100 pour l'activité enzymatique testée sur 5 mesures.

Le glucose étant connu comme inhibant partiellement la β -glucosidase du raisin (CORDONNIER et al., 1986; ARYAN et al., 1987), l'incidence des teneurs résiduelles présentes dans les poudres acétoniques de raisin a été testée. Dans nos conditions expérimentales ces teneurs sont trop faibles pour exercer une action inhibitrice sur l'activité β -glucosidase mesurée.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I — LOCALISATION DE L'ACTIVITÉ β -GLUCOSIDASE DANS LA BAIE

Les valeurs de l'activité β -glucosidase des différentes parties de la baie sont rassemblées dans le tableau II. La pellicule apparaît comme la partie la plus riche, suivie de la pulpe et enfin du jus, nettement plus pauvre. Compte-tenu des proportions pondérales respectives de la pellicule, de la pulpe et du jus dans la baie, l'activité β -glucosidase se répartit, en moyenne, comme suit : 40 p. 100 dans la pellicule, 40 p. 100 dans la pulpe, 20 p. 100 dans le jus.

TABLEAU II

Répartition de l'activité β -glucosidase dans les parties constitutives de la baie de raisin mûr variété Muscat d'Alexandrie

| Localisation | Activité β -glucosidase (nmoles pNP/minute/g de matériel végétal frais) | |
|--------------|--|------|
| | 1985 | 1986 |
| Pellicule | 22,4 | 19,4 |
| Pulpe | 16,0 | 10,4 |
| Jus | 3,2 | 1,6 |

Ces résultats sont très supérieurs à ceux récemment trouvés par ARYAN et *al.*, (1987). Ceci peut s'expliquer par les observations suivantes. 1) Le tampon phosphate-citrate est celui qui s'est révélé le plus efficace pour l'extraction de la β -glucosidase. C'est donc celui que nous avons retenu. 2) On a vérifié que la présence de tampon Tris dans le milieu réactionnel entraînait une diminution de l'activité β -glucosidase mesurée. Ce fait a été également noté dans le cas de β -glucosidases ayant d'autres origines que le raisin (AIT et *al.*, 1982; DEKKER, 1986). 3) La valeur du Km de la β -glucosidase que nous avons déterminé par ailleurs (1,3 mM) montre que, dans nos conditions de mesure, on opère réellement à la vitesse maximale de la réaction enzymatique. 4) Enfin compte tenu de la méthode d'extraction utilisée et en dépit des précautions prises par ARYAN et *al.*, (1987) on peut penser à une inhibition partielle de la β -glucosidase par le glucose du milieu.

Si, parallèlement à l'activité β -glucosidase, on s'intéresse à la répartition des terpénols libres et liés dans les mêmes parties constitutives de la baie mûre (GUNATA, 1984), on voit que c'est dans la pellicule que se trouve la plus grande part des terpénols libres de la baie. La pulpe et le jus sont beaucoup plus pauvres (ce dernier étant particulièrement riche en terpénols liés) alors que la part d'activité β -glucosidase de l'ensemble pulpe et jus atteint 60 p. 100 de l'activité totale. Il n'y a donc pas de relation directe entre l'activité β -glucosidase et les formes libres et liées des terpénols.

II — LOCALISATION DE L'ACTIVITÉ β -GLUCOSIDASE DANS LA FEUILLE DE VIGNE

GUNATA et *al.*, (1986) ont mis en évidence l'importance de la feuille de vigne dans le métabolisme des terpényl glucosides. Au stade de maturité du Muscat d'Alexandrie le limbe est riche en terpénols liés. Inversement, au même stade de développement du fruit, la fraction libre domine dans le pétiole. Il était donc intéressant de déterminer l'activité β -glucosidase dans ces deux parties de la feuille (tableau III).

TABLEAU III

Localisation de l'activité β -glucosidase dans les parties constitutives de la feuille de vigne variété Muscat d'Alexandrie au stade de maturité du raisin

| Localisation | Activité β -glucosidase (nmoles pNP/minute/g de matériel végétal frais) | |
|--------------|--|-------|
| | 1985 | 1986 |
| Limbe | 76,0 | 126,0 |
| Pétiole | 8,3 | 5,3 |

Le limbe possède une activité β -glucosidase particulièrement élevée, alors que celle du pétiole est faible. Comme dans les différentes parties du fruit il n'apparaît donc pas, dans la feuille, de relation entre l'activité β -glucosidase et la répartition des formes libres et liées des terpényl glycosides qui s'y trouvent.

III — ÉVOLUTION DE L'ACTIVITÉ β -GLUCOSIDASE AU COURS DE LA MATURATION

A chaque stade d'évolution de la baie, au cours de la maturation, on détermine la teneur en sucres, l'acidité de titration et l'activité β -glucosidase de l'ensemble du fruit (pellicule + pulpe + jus). Les résultats sont rassemblés dans les figures 1 à 3.

Au cours de la maturation, l'activité augmente pour atteindre un palier à partir de la maturité. Elle reste inchangée jusqu'au stade de surmaturité. Cette évolution est très différente de celle d'une autre osidase, l'invertase du raisin (CORDONNIER et *al.*, 1975) dont l'activité, au cours de la maturation, reste sensiblement constante. Par ailleurs, l'évolution de la β -glucosidase suit sensiblement celle des terpénols libres du jus (GUNATA, 1984) alors que les terpénols liés continuent à s'accumuler jusqu'à la surmaturité.

IV — INCIDENCE DU CÉPAGE SUR L'ACTIVITÉ β -GLUCOSIDASE

L'activité β -glucosidase a été déterminée dans un certain nombre de cépages mûrs, aromatiques ou non aromatiques (tableau IV).

Les résultats montrent que, pour un millésime donné, l'activité β -glucosidase varie selon les cépages; dans ce cas les activités les plus fortes sont en moyenne 2,8 fois plus élevées que les activités les plus faibles. Pour un cépage donné, il est cependant

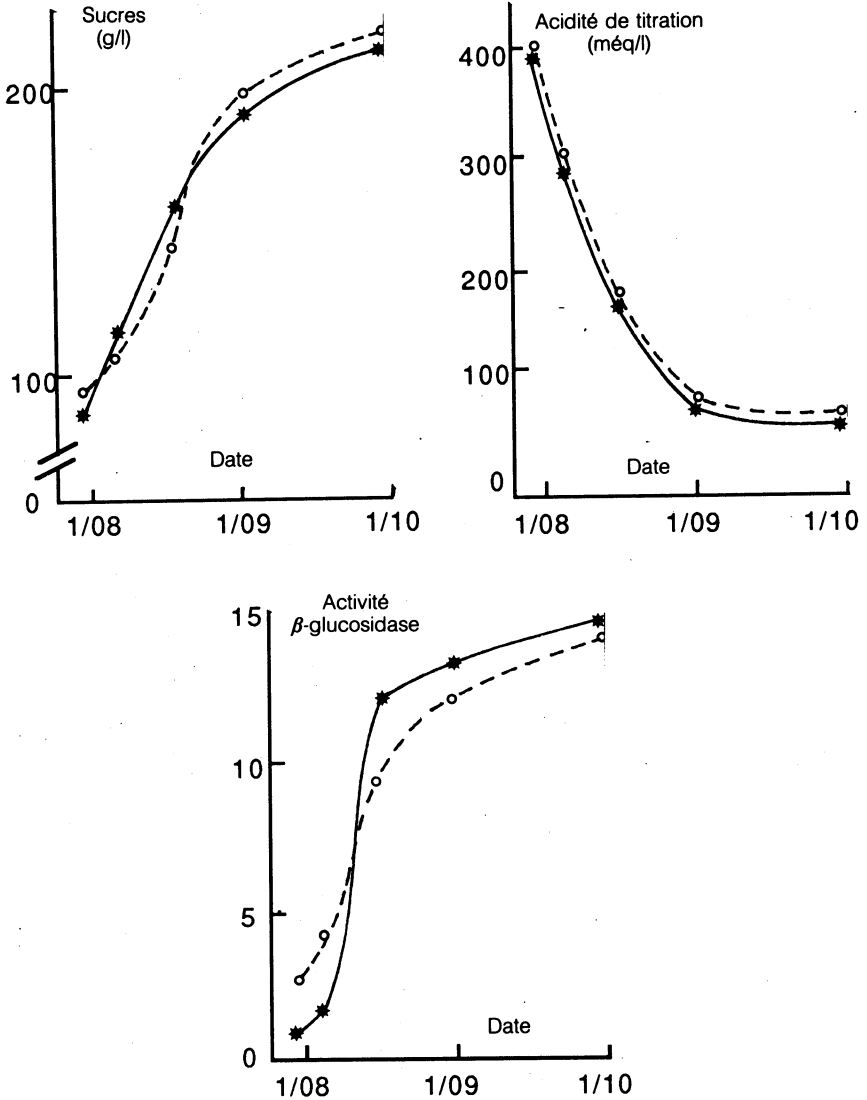


Fig. 1. — Évolution des teneurs en sucres, de l'acidité de titration et de l'activité β -glucosidase (nmoles pNP/min/g raisin frais) au cours de la maturation du raisin, variété Muscat d'Alexandrie.

o - - - o 1985 * - - - * 1986

fréquent d'enregistrer des variations d'activité selon les millésimes, même si des cépages comme le Grenache, par exemple, conservent au cours des trois millésimes étudiés des activités β -glucosidase faibles. Inversement, les Muscats d'Alexandrie et de Frontignan sont parmi les cépages qui ont une activité β -glucosidase élevée; ce sont aussi ceux qui possèdent les plus fortes teneurs en terpénols libres (GUNATA, 1984). Le caractère aromatique ou non aromatique du cépage n'a cependant pas d'inci-

dence; en effet, on rencontre de fortes activités dans des cépages non aromatiques comme la Syrah, le Merlot; le Carignan, particulièrement pauvres en terpénols, tant libres que liés. Il n'apparaît donc pas de relation entre ces deux paramètres. Il convient cependant de remarquer que les terpényl glycosides sont loin de constituer les seuls glycosides présents dans le raisin (RIBÉREAU-GAYON, 1964; CHEYNIER et RIGAUD, 1986) vis-à-vis desquels l'action d'une β -glucosidase peut éventuellement s'exercer, d'autant plus que la nature de l'aglycone n'a pas, en général, d'influence sensible sur la spécificité de la β -glucosidase (LALEGERIE, 1974).

TABLEAU IV
Activité β -glucosidase du raisin à maturité
en fonction du cépage

| Cépages | 1985 | | 1986 | | 1987 | |
|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| | Activité β -glucosidase (1) | Teneurs en sucres du jus (2) | Activité β -glucosidase (1) | Teneurs en sucres du jus (2) | Activité β -glucosidase (1) | Teneurs en sucres du jus (2) |
| Cépages aromatiques | | | | | | |
| Muscat d'Alexandrie | 14,4 | 195 | 13,9 | 198 | 14,6 | 177 |
| Muscat de Frontignan | 18,8 | 210 | 14,8 | 208 | 12,5 | 168 |
| Muscat de Hambourg | — | — | — | — | 8,2 | 198 |
| Cépages non aromatiques | | | | | | |
| Carignan | 10,8 | 172 | 16,7 | 182 | 20,8 | 168 |
| Grenache | 6,8 | 212 | 6,2 | 198 | 10,6 | 193 |
| Cabernet-Sauvignon | 12,8 | 180 | 8,2 | 208 | 11,8 | 200 |
| Syrah | 22,0 | 206 | 16,5 | 227 | 12,8 | 180 |
| Merlot | 20,4 | 190 | 13,7 | 200 | 14,0 | 204 |
| Cinsaut | — | — | — | — | 11,2 | 190 |
| Baroque | 11,6 | 198 | — | — | 13,3 | 213 |

(1) nmoles pNP/minute/g de raisin frais.

(2) g par litre.

CONCLUSION

Cette étude de l'activité β -glucosidase du raisin fait apparaître les conclusions suivantes :

Dans la baie, l'activité est concentrée dans la pellicule et dans la pulpe. Elle est très faible dans le jus. Dans la feuille de vigne, l'activité est importante dans le limbe,

faible dans le pétiole. D'une façon générale il n'apparaît pas de relation entre les niveaux d'activité mesurés et les teneurs correspondantes en terpénols libres.

Au cours de la maturation, l'activité β -glucosidase, faible aux stades verts du raisin, augmente rapidement à partir de la véraison jusqu'à la maturité où elle marque son niveau le plus élevé.

A maturité, l'activité β -glucosidase est présente aussi bien dans les cépages aromatiques que dans ceux non aromatiques. Elle varie selon les cépages et, fréquemment, pour un cépage donné, selon les millésimes.

Les études complémentaires poursuivies au laboratoire permettront de préciser les caractéristiques biochimiques de cette enzyme. De plus, outre l'activité β -glucosidase, un inventaire plus complet des autres activités glycosidasiques du raisin susceptibles d'intervenir dans l'hydrolyse de ses glycosides est actuellement en cours et fera l'objet d'une prochaine publication.

Manuscrit reçu le 26 mars 1988; accepté pour publication le 25 avril 1988.

RÉSUMÉ

Dans ce travail, on étudie l'activité β -glucosidase du raisin. Une méthode d'extraction de l'enzyme à partir du matériel végétal a été mise au point et optimisée. L'activité enzymatique est mesurée spectrophotométriquement avec le paranitrophénylglucopyranoside comme substrat. Dans la baie de raisin, la β -glucosidase est concentrée dans les parties solides, pellicule et pulpe. Dans le jus, elle est en faible quantité. Dans la feuille de vigne, l'activité est élevée dans le limbe, faible dans le pétiole. Au cours de la maturation du raisin l'activité β -glucosidase augmente jusqu'à la maturité. Au-delà, jusqu'au stade de surmaturation, elle reste constante. Dans les raisins mûrs, la β -glucosidase est présente dans toutes les variétés étudiées, aussi bien dans les variétés aromatiques (Muscat d'Alexandrie, Muscat de Frontignan, Muscat de Hambourg) que dans celles non aromatiques (Carignan, Grenache, Cinsaut, Baroque, Cabernet-Sauvignon, Syrah, Merlot). Pour un millésime donné, l'activité β -glucosidase varie selon la variété. Les activités les plus élevées ont été rencontrées dans les Muscats, le Carignan, la Syrah et le Merlot. Elles sont environ 2,8 fois plus élevées que les activités les plus faibles. Pour une variété donnée, les niveaux d'activité varient fréquemment selon le millésime.

SUMMARY

β -glucosidase activity in grape was studied. A method of extraction of the enzyme from plant material was optimized and glucosidase activity measured spectrophotometrically using paranitrophenylglucopyranoside as substrate. High concentrations of β -glucosidase were found in grape berry solids (skin and pulp) and low concentrations in the juice. This distribution is similar to that of free terpenols in the same parts of the berry. The β -glucosidase content were very high in grape leaf blades and low in stems. Activity of the enzyme increased during maturation of the fruit. It was found in mature fruit of both aromatic (Muscat of Alexandria, Muscat of Frontignan, Muscat of Hamburg) and non-aromatic (Carignane, Grenache, Cinsaut, Baroque, Cabernet-Sauvignon, Sirah, Merlot) varieties. β -glucosidase activity varied according to variety for a given vintage. The highest activities (approximately 2.8 times higher than the lowest observed) were found in the different Muscats and also in non-aromatic varieties such as Sirah, Merlot and Carignane. β -glucosidase activity in a given variety was frequently found to vary considerably from one vintage to another.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AIT N., CREUZET N. et CATTANEO J., 1982. Properties of β -glucosidase purified from *Clostridium thermocellum*. *J. Gen Microbiol.*, **128**, 569-577.
- ARYAN A.P., WILSON B., STRAUSS C.R. et WILLIAMS P.J., 1987. The properties of glycosidases of *Vitis vinifera* and a comparison of their β -glucosidase activity with that of exogenous enzymes. An assessment of possible applications in enology. *Am. J. Enol. Vitic.*, **38**, N° 3, 182-188.
- BAYONOVE C. et CORDONNIER R., 1971a. Recherche sur l'arôme du Muscat. III. Étude de la fraction terpénique. *Ann. Technol. Agric.*, **20**, N° 4, 347-355.
- BAYONOVE C. et CORDONNIER R., 1971b. Le linalol, constituant important mais non spécifique de l'arôme des Muscats. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **57**, 1374-1378.
- CHEYNIER V. et RIGAUD J., 1986. HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of *Vitis vinifera* var. Cinsaut. *Am. J. Enol. Vitic.*, **37**, N° 4, 248-252.
- CORDONNIER R., BIRON C. et DUGAL A., 1975. Les invertases du raisin et de *Saccharomyces cerevisiae*. Leur participation respective à l'hydrolyse du saccharose ajouté à la vinification. *Ann. Technol. Agric.*, **24**, N° 2, 171-192.
- CORDONNIER R. et BAYONOVE C., 1974. Mise en évidence, dans la baie de raisin var. Muscat d'Alexandrie, de monoterpénols liés révélables par une ou plusieurs enzymes du fruit. *C.R. Acad. Sc. Fr.*, **278**, (D), 3387-3390.
- CORDONNIER R., BAYONOVE C. et BAUMES R., 1986. Données récentes sur les précurseurs d'arôme du raisin. Perspectives de leur exploitation en œnologie. *Rev. Fr. Oenol.*, **26**, N° 102, 29-41.
- DEKKER R.F.H., 1986. Kinetic, inhibition and stability properties of a commercial β -D-glucosidase (cellobiase). Preparation from *Aspergillus niger* and its suitability in the hydrolysis of lignocellulose. *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 1438-1442.
- DIAZ CERVANTES M.I., 1979. Contribution à l'étude des substances volatiles des raisins et des vins. *Thèse Doctorat Sciences*, Université de Bordeaux.
- DI STEFANO F., 1981. Composti terpenici del Moscato bianco del Piemonte. *Vini d'Italia*, **130**, 29-43.
- GUNATA Y.Z., 1984. Recherches sur la fraction liée de nature glycosidique de l'arôme de raisin. Importance des terpényl glycosides. Action des glycosidases. *Thèse Doctorat Sciences*, Université de Montpellier.
- GUNATA Y.Z., BAYONOVE C., BAUMES R. et CORDONNIER R., 1985. The aroma of grapes. Localization and evolution of free and bound fractions of some grape aroma components c.v. Muscat during first development and maturation. *J. Sci. Food Agric.*, **36**, N° 9, 857-862.

- GUNATA Y.Z., BAYONOVE C., BAUMES R. et CORDONNIER R., 1986. Changes in free and bound fractions of aromatic components in vine leaves during development of Muscat grapes. *Phytochemistry*, **25**, N° 4, 943-946.
- LALEGERIE P., 1974. La β -glucosidase de l'amande douce (*Amygdalus communis* L.). II. Propriétés. *Biochimie*, **56**, 1297-1303.
- RIBÉREAU-GAYON P., 1964. Les composés phénoliques du raisin et du vin. II. Les flavonosides et les anthocyanosides. *Ann. Physiol. Vég.*, **6**, 211-242.
- TERRIER A., 1972. Les composés terpéniques dans l'arôme des raisins et des vins de certaines variétés de *Vitis vinifera*. *Thèse Doctorat Sciences*, Université de Bordeaux.
- USSEGLIO-TOMASSET L., 1966. Aroma di Moscato nelle uve e nei vini. *Indust. Agrar.*, **4**, N° 5, 216-244.
- USSEGLIO-TOMASSET L., 1969. I costituenti aromatici delle uve. *Riv. Vitic. Enol.*, **22**, N° 6, 223-243.
- USSEGLIO-TOMASSET L., ASTEGIANO V. et MATTA M., 1966. Il linalolo, composto responsabile delle aroma delle uve e dei vini aromatici. *Ind. Agrar.*, **4**, 583-588.
- USSEGLIO-TOMASSET L. et DI STEFANO R., 1979. Osservazioni sui costituenti terpenici delle uve e dei vini aromatici. *Vigne Vini*, **10**, N° 10, 33-38.
- USSEGLIO-TOMASSET L. et DI STEFANO R., 1980. Profilo aromatico del Moscato bianco del Piemonte. *Rev. Vitic. Enol.*, **33**, 58-68.
- WILLIAMS P.J., STRAUSS C.R. et WILSON B., 1980. New linalool derivatives in Muscat of Alexandria grapes and wines. *Phytochemistry*, **19**, N° 6, 1137-1139.
- WILLIAMS P.J., STRAUSS C.R. et WILSON B., 1981. Classification of the monoterpenoid composition of Muscat grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, N° 3, 230-235.
- WILLIAMS P.J., STRAUSS C.R., WILSON B. et MASSY-WESTROPP R.A., 1982 (a). Novel monoterpene disaccharide glycoside of *Vitis vinifera* grapes and wines. *Phytochemistry*, **21**, N° 8, 2013-2020.
- WILLIAMS P.J., STRAUSS C.R., WILSON B. et MASSY-WESTROPP R.A., 1982 (b). Studies on the hydrolysis of *Vitis vinifera* monoterpene precursor compounds and model monoterpene- β -D-glucosides rationalizing the monoterpene composition of grapes. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, N° 6, 1219-1223.
- WILLIAMS P.J., STRAUSS C.R., WILSON B. et MASSY-WESTROPP R.A., 1983. Glycosides of 2-phenylethanol and benzyl alcohol in *Vitis vinifera* grapes. *Phytochemistry*, **22**, N° 9, 2039-2041.