

UNIVERSITÉ DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES TECHNOLOGIE SANTE (547)

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

Discipline : SCIENCES AGRONOMIQUES, BIOTECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES

Spécialité : Biochimie et Biologie moléculaire

Présentée et soutenue publiquement par

Duc An HOANG

Le 24 octobre 2017

**Impact du fractionnement au pressurage sur la composition et les caractéristiques des
moûts et des vins de Champagne - Effet de la maturité et de l'état sanitaire des raisins**

Thèse dirigée par YANN VASSEROT, RICHARD MARCHAL ET SANDRINE JÉGOU

JURY

Mme Laurence GENY-DENIS	Professeur,	Université de Bordeaux,	Président
M. Hervé ALEXANDRE,	Professeur,	Université de Bourgogne,	Rapporteur
M. Thierry DOCO,	Chargé de Recherche,	INRA de Montpellier,	Examinateur
M. Bertrand ROBILLARD,	Docteur,	Institut Œnologique de Champagne,	Examinateur
M. Yann VASSEROT,	Maître de Conférences HDR,	Université de Reims Champagne-Ardenne,	Invité
Mme Sandrine JÉGOU,	Maître de Conférences,	Université de Reims Champagne-Ardenne,	Invitée

REMERCIEMENTS

Remerciements

Voici venu le temps de l'exercice des remerciements. Peut-être est-ce le plus difficile dans une thèse ! En effet, chaque personne qui y est citée mérite la plus belle phrase alors que rares sont les docteurs ou futurs docteurs à avoir de réels talents littéraires... Ainsi, comme tout un chacun, je vais essayer de faire au mieux et que tous les gens qui me liront sachent que ces pages ont été écrites avec tout mon cœur.

Un grand merci au Professeur Laurence GENY-DENIS de l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV) de l'Université de Bordeaux, et au Professeur Hervé ALEXANDRE de l'Institut Universitaire de la Vigne et du Vin (IUVV) de l'Université de Bourgogne d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse. Je remercie également le Docteur Thierry DOCO de l'UMR Sciences pour l'Œnologie de l'INRA de Montpellier et le Docteur Bertrand ROBILLARD de l'Institut Œnologique de Champagne d'être examinateurs de ce travail.

Je tiens en premier lieu à remercier le Professeur Christophe CLÉMENT, Directeur de l'Unité de Recherche Vignes et Vins de Champagne EA 4707 de m'avoir accueilli au sein de cet établissement et de cette unité.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse Yann VASSEROT qui a veillé à son bon déroulement, avec beaucoup d'intérêt et d'écoute, et le Dr Richard MARCHAL (Directeur du Laboratoire d'Œnologie et Chimie Appliquée, LOCA) qui m'a confié ce travail de recherche.

L'encadrement de ma thèse a été réalisé par le Dr Sandrine JÉGOU et le Dr Richard MARCHAL. Je tiens par ces quelques mots à les remercier profondément de m'avoir accueilli dans leur équipe et de m'avoir offert l'opportunité d'effectuer cette thèse. Leur confiance, leur aide et leur encouragement ont été déterminants dans l'accomplissement de ce travail ainsi que dans l'enthousiasme qui a guidé ces recherches. Au-delà de l'expérience professionnelle, ils m'ont permis de relever des défis personnels. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère et profonde reconnaissance.

Je remercie le Dr Thierry DOCO et également Madame Pascale WILLIAMS de l'UMR Sciences pour l'Œnologie de l'INRA de Montpellier, d'avoir examiné ce travail et de m'avoir fait partager leur grande expérience des oligosaccharides et des polysaccharides des vins.

Remerciements

Je remercie également l'IOC et tout particulièrement Madame Céline VRIGNEAU, Œnologue et Responsable du Laboratoire d'analyses de l'IOC de Cormontreuil, qui ont généreusement, et avec toujours la plus grande disponibilité, contribué à mes travaux pendant ces trois années.

Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier du gouvernement Vietnamien. Je remercie les responsables du Ministère de l'Éducation et de la Formation du Vietnam, Monsieur Vu Luan PHAM, qui m'ont accordé leur confiance et permis de mener à bien ce travail dans de bonnes conditions matérielles.

Ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans l'aide précieuse de Monsieur Thomas SALMON et Madame Maryline PARMENTIER du LOCA. Vous avez été les « piliers » de ces trois années au laboratoire... Dans les bons comme dans les mauvais moments, vous étiez là. Merci pour le temps passé à m'écouter, à me conseiller, merci pour votre sagesse, votre recul et votre implication.

Merci aux personnes qui m'ont conforté dans la voie de la recherche : Solomen OLUWA et Pinhe LIU, qui m'ont beaucoup aidé pendant toute la réalisation de cette thèse. Merci pour leurs conseils, les informations et les suggestions qu'ils m'ont transmis. Je leur en suis très reconnaissant.

Mes remerciements vont aussi à tous mes amis, stagiaires, personnels administratifs et scientifiques du LOCA que j'ai côtoyés au cours de ces trois années de thèse. J'aimerais remercier particulièrement Emeline SOULIER, Duc PHAM et Christopher PRIN avec qui j'ai passé des moments inoubliables et qui m'ont aidé à rédiger ce travail en français.

Enfin, j'aimerais remercier certaines personnes qui n'ont pas participé scientifiquement à ce travail, mais qui ont partagé une grande partie de ma vie durant ces quatre années : tous les membres de ma famille pour leur gentillesse, leur soutien moral et financier, sans lesquels je n'aurais certainement pas pu venir à bout de cette thèse. En particulier, merci de m'avoir fait revivre et redonné l'envie d'aller au bout de mes rêves !!!

Encore un grand merci à tous... !

**PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS
SCIENTIFIQUES**

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Publication acceptée :

Jégou, S., **Hoang, D.A.**, Salmon, T., Williams, P., Oluwa S., Vrigneau, C., Doco, T. and Marchal, R. (2017). Effect of grape juice press fractioning on polysaccharide and oligosaccharide compositions of Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines. *Food Chemistry*, 232, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.032> (Annexe 1).

Publication soumise :

Liu, P.H., Vrigneau, C., Salmon, T., **Hoang, D.A.**, Boulet, J.C., Jégou, S. and Marchal, R. Influence of grape berry maturity on juice and base wine compositions and foaming properties in Champagne region. *Food Research International* (novembre 2017).

Posters :

Salmon, T., **Hoang, D.A.**, Vrigneau, C., Marchal, R., Jégou, S. (2017). Effect of grape juice fractioning and *Botrytis* berry infection on proteolytic of Champagne base wines. WAC Congress 2017, Beaune, France.

Liu, P.H., Vrigneau, C., Salmon, T., **Hoang, D.A.**, Robillard B., Jégou, S., Marchal, R. (2017). Influence of grape berry maturity and pressing cycle on Champagne base wine composition. WAC Congress 2017, Beaune, France.

Communication orale :

Jégou, S., **Hoang, D.A.**, Salmon, T., Williams, P., Vrigneau, C., Doco, T., Marchal, R. (2015). Impact of press fractioning on polysaccharide and oligosaccharide composition of Pinot meunier Champagne base wines. 10th International Symposium of Enology, Oeno 2015, Bordeaux, France.

RÉSUMÉ

Impact du fractionnement au pressurage sur la composition et les caractéristiques des moûts et des vins de Champagne - Effet de la maturité et de l'état sanitaire des raisins.

Le fractionnement au pressurage, étape clé de la méthode champenoise, et le type de pressurage, conditionnent de façon significative la composition biochimique du moût et du vin. Le pressurage est fractionné en séparant les premiers moûts extraits, qui constituent la "cuvée", et qui proviennent de la pulpe, partie la plus riche en sucres et en acides (tartrique et malique), des volumes suivants, appelés "tailles", qui sont aussi riches en sucres, en sels minéraux (potassium notamment) et en matières colorantes mais moins acides. Les moûts ont des caractéristiques analytiques bien spécifiques. L'évolution de la composition des moûts au cours du pressurage et la mesure des principaux paramètres analytiques permettant de juger de la qualité de l'extraction ont fait l'objet de quelques études (Valade et Blanck, 1989; Blouin, 1998) sur la base d'un fractionnement volumétrique répondant à un cahier des charges champenois. Toutefois, aucune étude portant sur un large nombre de paramètres, dont les propriétés moussantes, n'avait été entreprise avant ce travail de thèse.

Une contamination du raisin par le champignon pathogène *Botrytis cinerea* (pourriture grise) et l'effet de la maturité des raisins, autres paramètres clés dans l'élaboration du Champagne, ont un impact sur la qualité et la composition des moûts et des vins de base et notamment sur les compositions protéique, polysaccharidique et oligosaccharidique. Les essais ont été réalisés avec 2 pressoirs différents : un pressoir pneumatique industriel (capacité 8000 kg) et un pressoir de laboratoire (capacité 6 kg). Ce travail a été réalisé sur deux cépages : Pinot meunier (millésimes 2013 et 2015) et Chardonnay (millésimes 2014 et 2015). Les analyses suivantes ont été réalisées sur les moûts et vins de base : (i) paramètres œnologiques classiques des moûts et des vins, (ii) isolement et analyse des polysaccharides et oligosaccharides solubles des vins de base, (iii) quantification et identification des protéines solubles des vins de base, (iv) mesure de l'activité protéasique des vins de base (impact de *Botrytis cinerea*), (v) comparaison de la composition des moûts et des vins issus de raisins sains de deux millésimes : 2013 (pressoir industriel) et 2014 (pressoir de laboratoire).

La connaissance de l'état sanitaire et l'optimisation du choix de la date des vendanges en fonction de la maturité sont des outils à la disposition de l'œnologue qui lui permettent d'améliorer la qualité des moûts produits au cours du pressurage et par conséquent celle des vins qui en sont issus. A la suite de cette approche, il serait intéressant de voir dans quelles conditions ces paramètres pourraient être reproduits à grande échelle pour une application industrielle.

Mots-clés : raisin, maturité, fractionnement au pressurage, *Botrytis cinerea*, polysaccharide/oligosaccharide, protéine, activité protéasique, vins de Champagne.



Impact of press fractioning on the composition and characteristics of musts and wines of Champagne - Effect of maturity and sanitary condition of the grapes.

Press fractioning is a key step in the Champagne method, and the type of pressing will significantly determine the biochemical composition of the juice and the wine. The first pressed juice obtained in the pressing cycle, called the “cuvée”, is rich in sugar and acids (tartaric and malic). The second pressed juice, called the “tailles”, is as rich in sugar, mineral salts (potassium in particular) and colorant materials as the first one but less acidic. Must has specific analytical characteristics. The change of the must composition during the pressing cycle and the measure of current analytical parameters, allowing the understanding of grape extraction, has been presented in a few studies for the Champagne region (Valade et Blanck, 1989; Blouin, 1998). These studies have followed the changes between the Cuvée and the Tailles, according to the rules applied for Champagne production. Nevertheless, no study had considered a large number of parameters, including the foaming properties, before this thesis work.

The grape contamination by the pathogenic *Botrytis cinerea* (gray mold) and the effect of grape maturity, which are other key parameters in the elaboration of Champagne, have an impact on the quality of must and base wine, especially on proteins, polysaccharides and oligosaccharides. The essays were carried out in two different presses: an industrial automatic press (capacity 8000 kg) and a laboratory press (capacity 6 kg). This study was made on two grape varieties: Pinot meunier (vintages 2013 and 2015) and Chardonnay (vintages 2014 and 2015). The following analyzes were realized on musts and base wines: (i) determination of current oenological parameters of musts and base wines, (ii) isolation and analysis of soluble polysaccharides and oligosaccharides of base wines, (iii) analysis, quantification and identification of soluble proteins of base wines, (iv) quantification of protease activity of base wines (impact of *Botrytis cinerea*), (v) comparison of composition of musts and base wines from healthy grapes of two vintages: 2013 (industrial press) and 2014 (laboratory press).

The knowledge of the sanitary status and the optimization of the harvest date are tools used by oenologist to improve the must quality, obtained during the pressing cycle, and therefore of wine elaborated from them. Following this study, it could be interesting to examine in which conditions these parameters may be reproduced at a larger scale for forward industrial applications.

Keywords: grape berry, maturity, press fractioning, *Botrytis cinerea*, polysaccharide/oligosaccharide, protein, protease activity, Champagne.

Discipline : SCIENCES AGRONOMIQUES, BIOTECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES

Spécialité : Biochimie et Biologie moléculaire

Université de Reims Champagne-Ardenne

Unité de recherche Vignes et Vins de Champagne (URVVC, EA 4707)

Laboratoire d’Œnologie et Chimie Appliquée



ABRÉVIATIONS

Abréviations

µg	Microgramme
µL	Microlitre
µS	Microsiemens
2-O-MeFuc	2-O-CH ₃ -fucose
2-O-MeXyl	2-O-CH ₃ -xylose
4-OMeA Glc	4-O-méthyl acide glucuronique
a*	Composante de couleur rouge/vert
A.B.	Activité enzymatique brute
A Cys	Acide cystéique
AG-I	Arabinogalactane de type I
AG-II	Arabinogalactane de type II
A Gal	Acide galacturonique
A Glc	Acide glucuronique
AGPs	Arabinogalactane-protéines
Ala	Alanine
AOC	Appellation d'Origine Contrôlée
AOP	Appellation d'Origine Protégée
AP	Auto-pressurage
Api	Apiose
APS	Persulfate d'ammonium
Ara	Arabinose
Arg	Arginine
A.S.	Activité enzymatique spécifique
Asx	Somme acide aspartique et asparagine
ASB	Albumine de sérum bovin
A.T.	Acidité totale
ATF	Acide trifluoroacétique
AV	Acidité volatile
b*	Composante de couleur jaune/bleu
BBC	Bleu Brillant de Coomassie
°C	Degré Celsius
CHY	Chardonnay
cv.	Cultivar
DDT	Dithiothréitol

Abréviations

FA	Fermentation alcoolique
Fuc	Fucose
Gal	Galactose
GC-MS	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
Glc	Glucose
Glx	Somme acide glutamique et glutamine
Gly	Glycine
HG	Homogalacturonane
His	Histidine
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
Hyp	Hydroxyproline
IC	Intensité Colorante
IFC	Indice Folin-Ciocalteu
Ile	Isoleucine
kDa	KiloDalton
L*	Clarté/ Luminosité
Leu	Leucine
Lys	Lysine
Man	Mannose
Met	Méthionine
Met sulf	Méthionine sulfoxyde
mg	Milligramme
min	Minute
mL	Millilitre
mM	Millimolaire
MM	Masse moléculaire
Mol	Molaire
MPs	Mannoprotéines
NaCl	Chlorure de sodium
NAD ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADP ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NaOH	Soude caustique
OIV	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin

Abréviations

OS	Oligosaccharide
pH	Potentiel Hydrogène
Phe	Phénylalanine
pI	Point isoélectrique
PM	Pinot meunier
PR	Pathogenesis-related
PRAGs	Polysaccharides riches en arabinose et galactose
Pro	Proline
PS	Polysaccharide
RG	Rhamnogalacturonane
Rha	Rhamnose
rpm	Rotations par minute
S	Serre
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
Ser	Sérine
SM	Spectrométrie de masse
TAP	Titre alcoométrique probable/potentiel
TAV	Titre alcoométrique volumique
TEMED	N, N, N', N'-tétraméthyl-1-,2-diaminométhane
Thr	Thréonine
Tris	Tri-(hydroxyméthyl)-amino méthane
Tri-Sil	Triméthylsilyl N-triméthylsilylacétamidate
Tyr	Tyrosine
U	Unité enzymatique
UV	Ultraviolet
Val	Valine
Xyl	Xylose

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

RÉSUMÉ

ABRÉVIATIONS

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GÉNÉRALE

CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le raisin	4
1.1. Généralités.....	4
1.2. Le vignoble de l'appellation Champagne.....	4
1.3. La baie de raisin.....	5
1.3.1. La pellicule.....	6
1.3.2. La pulpe.....	7
1.3.3. Les pépins.....	7
1.4. Développement de la baie de raisin.....	7
1.4.1. Les phases de développement d'une baie de raisin.....	7
1.4.1.1. Phase 1 : Phase de croissance herbacée (ou stade vert).....	8
1.4.1.2. Phase 2 : Phase de ralentissement de croissance.....	9
1.4.1.3. Phase 3 : Seconde phase de croissance (la maturation).....	9

1.4.2. La maturité des raisins	10
1.5. Composition chimique du raisin et évolution au cours de la croissance et de la maturation de la baie de raisin	13
1.5.1. Les substances pectiques	13
1.5.2. Les sucres	14
1.5.3. Les acides organiques	15
1.5.5. Les substances azotées.....	18
1.5.6. Les substances minérales.....	19
2. Elaboration du Champagne.....	21
2.1. Généralités	21
2.2. Le pressurage des raisins en Champagne	22
2.2.1. Principes du pressurage	22
2.2.2. Les différents pressoirs	23
2.2.3. La conduite du pressurage.....	24
2.2.4. Les caractéristiques des différentes fractions issues du pressurage	25
2.3. La méthode champenoise ou traditionnelle	26
2.4. Composition et paramètres œnologiques des vins de Champagne.....	30
2.4.1. Composition chimique globale et paramètres œnologiques	30
2.4.2. Les protéines.....	31
2.4.2.1. Les protéines de raisin.....	31
2.4.2.2. Les protéines levuriennes	32
2.4.3. Les PS.....	34
2.4.3.1. Les PS de raisin	34
2.4.3.2. Les PS levuriens	36
3. <i>Botrytis cinerea</i>	37
3.1. Modalités d'infection de la baie de raisin.....	38
3.1.1. Infection par pénétration des tissus	39
3.1.2. Infection par des ouvertures naturelles ou blessures.....	40
3.2. Développement de l'infection dans la baie	40
3.3. Les protéines et polysaccharides sécrétés par <i>Botrytis cinerea</i> dans la baie de raisin	41
3.3.1. Les protéines sécrétés par <i>Botrytis cinerea</i>	41
3.3.1.1. Les enzymes de dégradation	41

3.3.1.2. Les enzymes de détoxification	43
3.3.1.3. Les enzymes d'oxydation.....	43
3.3.1.4. Les protéases	43
3.3.1.5. Les enzymes liées au métabolisme des sucres	44
3.3.2. Les polysaccharides sécrétés par <i>Botrytis cinerea</i>	44
3.3.2.1. L'hétéropolymère de <i>Botrytis cinerea</i>	44
3.3.2.2. Le β -glucane de <i>Botrytis cinerea</i>	44
3.4. Impacts du <i>Botrytis cinerea</i> sur la qualité des moûts, des vins et la vinification.....	45

CHAPITRE II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matières premières et élaboration des moûts et vins de base.....	47
1.1. Les raisins.....	47
1.1.1. Les cépages.....	47
1.1.2. Les millésimes.....	47
1.2. Prélèvements des grappes pour l'étude de l'impact de <i>Botrytis cinerea</i>	47
1.3. Prélèvements des grappes pour le suivi de la maturité des baies de raisin.....	49
1.4. Prélèvements des moûts au cours du fractionnement au pressurage.....	51
1.4.1. Pressurage avec pressoir industriel.....	51
1.4.2. Pressurage avec pressoir de laboratoire	51
1.5. La vinification des moûts issus du fractionnement au pressurage.....	53
2. Détermination des paramètres œnologiques des moûts et vins	55
2.1. Mesure du pH	55
2.2. Masse volumique et densité relative à 20°C.....	55
2.3. Mesure du titre alcoométrique potentiel (TAP % vol)	55
2.4. Mesure du titre alcoométrique volumique (TAV % vol)	56
2.5. Mesure de l'acidité	56
2.5.1. L'acidité totale.....	56
2.5.2. L'acidité volatile.....	56
2.6. Dosage des sucres.....	57
2.6.1. Dosage des sucres de la baie.....	57
2.6.2. Dosage des sucres dans les moûts	57

2.6.3. Dosage du glucose et du fructose dans les vins	58
2.7. Dosage des acides organiques	59
2.7.1. L'acide tartrique	59
2.7.2. L'acide malique.....	59
2.7.3. L'acide gluconique.....	60
2.8. Dosage de l'azote.....	60
2.8.1. L'azote ammoniacal.....	61
2.8.2. L'azote alpha-aminé	61
2.8.3. L'azote assimilable	61
2.9. Dosage du calcium.....	62
2.10. Dosage du potassium.....	62
2.11. Mesure de l'indice Folin-Ciocalteu	62
3. Détermination des caractéristiques œnologiques des vins.....	63
3.1. Mesure de la conductivité.....	63
3.2. Les caractéristiques chromatiques	63
3.2.1. Détermination des caractéristiques chromatiques par la méthode usuelle	63
3.2.2. Détermination des caractéristiques chromatiques par la méthode de référence (CIELab)....	64
4. Méthodes d'étude des protéines	65
4.1. Dosage colorimétrique et spectrophotométrique.....	65
4.2. Quantification des protéines par électrophorèse monodimensionnelle en conditions dénaturantes (SDS-PAGE, coloration au nitrate d'argent) et densitométrie.....	66
4.3. Protéomique.....	67
4.3.1. Electrophorèse SDS-PAGE (coloration Blue silver).....	67
4.3.2. Identification des protéines par spectrométrie de masse (LC- MS/MS)	68
4.4. Détermination de l'activité protéasique spécifique des vins	72
4.5. Analyse des acides aminés dans les fractions des PS et OS des vins.....	73
5. Isolement et analyse des polysaccharides (PS) et oligosaccharides (OS) dans les vins	73
5.1. Isolement et fractionnement des PS et OS	73
5.2. Caractérisation et dosage des oses des PS par la méthode des acétates d'alditols	74
5.3. Caractérisation et dosage des oses des OS par la méthode de triméthylsilylation	76
6. Analyse statistique	78

CHAPITRE III. IMPACT DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE SUR LA COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS DE PINOT MEUNIER 2013

1. Les moûts de Pinot meunier de la vendange 2013	79
1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts	79
1.2. Corrélations entre les caractéristiques des moûts	80
1.3. Composition protéique et identification des protéines	81
1.4. Discussion sur les moûts	83
2. Les vins de Pinot meunier de la vendange 2013.....	86
2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins	86
2.2. Corrélations entre les caractéristiques des vins	87
2.3. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins	87
2.4. Composition protéique et identification des protéines	89
2.5. Teneurs et caractérisation des PS	92
2.5.1. Composition en oses des PS	92
2.5.2. Les PS.....	93
2.6. Teneurs et caractérisation des OS.....	96
2.6.1. Composition en oses des OS.....	96
2.6.2. Les OS.....	98
2.7. Composition en acides aminés des fractions PS et OS.....	99
2.7.1. Composition en acides aminés des fractions PS	99
2.7.2. Composition en acides aminés des fractions OS	100
2.8. Discussion sur les vins.....	101
3. Conclusions	108

CHAPITRE IV. IMPACT DE LA MATURITÉ DES BAIES DE RAISIN ET DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE SUR LA COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS

1. Les moûts et vins de Chardonnay de la vendange 2015.....	111
1.1. Les moûts.....	111
1.1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts	111
1.1.2. Corrélations entre les paramètres œnologiques des moûts	114
1.1.2.1. Le stade de maturité I (CHY I).....	115
1.1.2.2. Le stade de maturité II (CHY II).....	115
1.1.2.3. Le stade de maturité III (CHY III)	116
1.1.3. Cinétiques fermentaires des moûts.....	120
1.1.4. Discussion sur les moûts	120
1.2. Les vins.....	124
1.2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins.....	124
1.2.2. Caractéristiques chromatiques des vins.....	126
1.2.3. Teneurs en protéines	129
1.2.4. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des vins	133
1.2.4.1. Le stade de maturité I.....	133
1.2.4.2. Le stade de maturité II.....	135
1.2.4.3. Le stade de maturité III	137
1.2.5. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des moûts et des vins	139
1.2.5.1. Le stade de maturité I.....	139
1.2.5.2. Le stade de maturité II.....	141
1.2.5.3. Le stade de maturité III	143
1.2.6. Discussion sur les vins.....	145
2. Les moûts et vins de Pinot meunier de la vendange 2015	148
2.1. Les moûts.....	148
2.1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts	148
2.1.2. Corrélations entre les paramètres œnologiques des moûts	150
2.1.2.1. Le stade de maturité I (PM I)	150
2.1.2.2. Le stade de maturité II (PM II).....	151

2.1.2.3. Le stade de maturité III (PM III)	151
2.1.2.4. Le stade de maturité IV (PM IV)	152
2.1.3. Cinétiques fermentaires des moûts.....	157
2.1.4. Discussion sur les moûts	157
2.2. Les vins.....	159
2.2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins.....	159
2.2.2. Caractéristiques chromatiques des vins.....	162
2.2.3. Teneurs en protéines	165
2.2.4. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des vins	169
2.2.4.1. Le stade de maturité I.....	169
2.2.4.2. Le stade de maturité II.....	169
2.2.4.3. Le stade de maturité III	170
2.2.4.4. Le stade de maturité IV	170
2.2.5. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des moûts et des vins	175
2.2.5.1. Le stade de maturité I.....	175
2.2.5.2. Le stade de maturité II.....	177
2.2.5.3. Le stade de maturité III	180
2.2.5.4. Le stade de maturité IV	182
2.2.6. Discussion sur les vins.....	184
3. Conclusions	186

CHAPITRE V. IMPACT D'UNE CONTAMINATION DU RAISIN PAR *BOTRYTIS CINEREA* ET DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE SUR LA COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS

1. Les moûts sains et botrytisés de la vendange 2014.....	193
1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts	193
1.2. Corrélations entre les caractéristiques des moûts	196
1.2.1. Les moûts sains	196
1.2.2. Les moûts botrytisés	197
1.3. Cinétiques fermentaires des moûts	198
1.4. Discussion sur les moûts	199

2. Les vins sains et botrytisés de la vendange 2014.....	201
2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins	201
2.2. Corrélations entre les caractéristiques des vins	204
2.2.1. Les vins sains	204
2.2.2. Les vins botrytisés	206
2.3. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins	207
2.3.1. Les moûts et les vins issus de raisins sains	207
2.3.2. Les moûts et les vins issus de raisins botrytisés	208
2.4. Composition protéique et identification des protéines	209
2.5. Concentration en protéines totales et activité protéasique des vins.....	214
2.6. Teneurs et caractérisation des PS des vins	216
2.6.1. Les PS.....	216
2.6.2. Composition en oses des PS.....	219
2.7. Teneurs et caractérisation des OS des vins.....	220
2.8. Discussion sur les vins.....	223

3. Conclusions	231
-----------------------------	------------

CHAPITRE VI. COMPARAISON DE L'IMPACT DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE SUR LA COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS DES MILLÉSIMES 2013, 2014, 2015

1. Les moûts et vins issus de raisins sains Chardonnay de deux millésimes : 2014 et 2015	
1.1. Les moûts.....	235
1.1.1. Comparaison de la composition des moûts	235
1.1.2. Cinétiques fermentaires	238
1.2. Comparaison de la composition des vins	238
1.3. Discussion.....	240
2. Les moûts et vins de Pinot meunier de deux millésimes : 2013 et 2015	242
2.1. Comparaison de la composition des moûts	242
2.2. Comparaison de la composition des vins	244
2.3. Discussion.....	246

3. Comparaison de la composition des moûts et des vins issus de raisins sains de deux millésimes : 2013, pressurage avec pressoir industriel, et 2014, pressurage avec pressoir de laboratoire.....	247
3.1. Comparaison de la composition des moûts	247
3.2. Comparaison de la composition des vins	249
3.3. Discussion.....	252
4. Conclusions	253
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....	255
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	258
ANNEXES.....	287

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Carte du vignoble de Champagne	5
Figure 2. Schéma d'une baie de raisin	6
Figure 3. Phases de développement de la baie de raisin	8
Figure 4. Evolution des composés d'intérêt majeur au cours de la maturation	11
Figure 5. Evolution des 2 principaux acides organiques de la baie	16
Figure 6. Evolution des principaux éléments minéraux de la baie du cépage Riesling	20
Figure 7. Evolution de la pression du pressurage champenois.....	24
Figure 8. Principales étapes de la méthode champenoise ou traditionnelle	26
Figure 9. Représentation schématique de la pectine de la baie de raisin (Doco et al., 1995)	35
Figure 10. La pourriture grise (A) et la pourriture noble (B)	37
Figure 11. Modes d'infection par <i>Botrytis cinerea</i>	38
Figure 12. Représentation schématique de l'unité répétitive du β -glucane de <i>Botrytis cinerea</i> ..	45
Figure 13. Raisin à maturité	48
Figure 14. Chardonnay 2015 à 3 stades de maturité	49
Figure 15. Pinot meunier 2015 à 4 stades de maturité	50
Figure 16. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	51
Figure 17. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des raisins Chardonnay 2014 sains et botrytisés. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	52
Figure 18. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	53
Figure 19. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	53
Figure 20. Illustration de la démarche d'une analyse protéomique	68
Figure 21. Principales étapes de l'analyse protéomique par électrophorèse et spectrométrie de masse	69
Figure 22. Exemple de la séquence chimique de la transformation des oses neutres en acétates d'alditols (cas du galactose)	74
Figure 23. Protocole d'extraction et de dosage des oses neutres des PS du vin	75

Figure 24. Exemple de la séquence chimique pour la quantification des oses par méthanolyse et tri-méthyl-silylation (cas du galactose)	77
Figure 25. Protocole d'extraction et de dosage des oses des OS du vin	77
Figure 26. Profils protéiques des moûts de Pinot meunier 2013 après séparation sur gel SDS-PAGE. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	81
Figure 27. Evolution des protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	82
Figure 28. Profils protéiques des vins de Pinot meunier 2013 après séparation sur gel SDS-PAGE. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	89
Figure 29. Evolution des protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	90
Figure 30. Evolution du rapport Ara/Gal des PS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	93
Figure 31. Evolution de la concentration des MPs, des PRAGs et du RG-II (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	94
Figure 32. Evolution de la concentration des PS totaux (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	94
Figure 33. Pourcentage des MPs, des PRAGs et du RG-II (%) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	95
Figure 34. Evolution du rapport Ara/Gal des OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	96
Figure 35. Evolution du rapport Rha/A Gal des OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	97
Figure 36. Evolution du rapport (Ara+Gal)/Rha des OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	97
Figure 37. Evolution de la concentration des OS totaux (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	98

Figure 38. Evolution de la composition en acides aminés totaux (mg/L) des fractions PS et OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	101
Figure 39. Comparaison du rapport sucres/acidité totale (S/A.T.) des moûts issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	111
Figure 40. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	120
Figure 41. Masse moyenne des grappes prélevées au cours de la maturation des raisins Chardonnay 2015	121
Figure 42. Evolution du chroma (C*) des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	128
Figure 43. Evolution de l'intensité colorante (IC) des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	128
Figure 44. Evolution de la différence de couleur entre deux vins (ΔE^*) issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	128
Figure 45. Profil protéique après séparation sur gel SDS-PAGE des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015	130
Figure 46. Evolution des protéines majeures (SDS-PAGE, % par rapport à S1 CHY III) des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	131
Figure 47. Evolution des protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	132
Figure 48. Comparaison du rapport sucres/acidité totale (S/A.T.) des moûts issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	148
Figure 49. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	157
Figure 50. Masse moyenne des grappes prélevées au cours de la maturation des raisins Pinot meunier 2015.....	159
Figure 51. Evolution du chroma (C*) des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	163

Figure 52. Evolution de l'intensité colorante (IC) des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	164
Figure 53. Evolution de la différence de couleur entre deux vins (ΔE^*) issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	164
Figure 54. Profil protéique après séparation sur gel SDS-PAGE des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015	166
Figure 55. Evolution des protéines majeures (SDS-PAGE, % par rapport à S1 PM III) des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	167
Figure 56. Evolution des protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	168
Figure 57. Comparaison de la concentration en acide gluconique des moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014 au cours du pressurage. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	193
Figure 58. Comparaison du pH et de l'acidité totale des moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014 au cours du pressurage. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	194
Figure 59. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014 au cours du pressurage. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	194
Figure 60. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	198
Figure 61. Comparaison de la concentration en acide gluconique des vins sains et des vins botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	201
Figure 62. Comparaison de l'acidité totale et du pH des vins sains et des vins botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	202
Figure 63. Comparaison des paramètres œnologiques des vins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	202
Figure 64. Comparaison des profils électrophorétiques des protéines des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	210
Figure 65. Evolution des protéines majeures et protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1S) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	211

- Figure 66.** Comparaison des profils protéiques des vins sains (S2S) et botrytisés (S2B) de Chardonnay 2014 après séparation sur gel SDS-PAGE et coloration au bleu de Coomassie212
- Figure 67.** Evolution de la concentration en protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014 (mg/L équivalent ASB ; par la méthode de Bradford). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 215
- Figure 68.** Comparaison de l'activité enzymatique spécifique (A.S.) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014215
- Figure 69.** Evolution de la concentration en PS totaux des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 217
- Figure 70.** Evolution de la concentration en MPs des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 217
- Figure 71.** Evolution de la concentration en RG-II des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 217
- Figure 72.** Evolution de la concentration en PRAGs des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage de raisins 218
- Figure 73.** Evolution du rapport Ara/Gal des PS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 219
- Figure 74.** Evolution du rapport Ara/Gal des OS des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 221
- Figure 75.** Evolution du rapport Rha/A Gal des OS des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 221
- Figure 76.** Evolution du rapport (Ara + Gal)/Rha des OS des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 221
- Figure 77.** Comparaison des paramètres œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins..... 237
- Figure 78.** Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins 238
-

Figure 79. Comparaison des paramètres œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	239
Figure 80. Evolution de la concentration en protéines totales (méthode de Bradford) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	240
Figure 81. Températures moyennes en Champagne-Ardenne en 2014 et 2015	241
Figure 82. Quantité de précipitations et temps d'ensoleillement en Champagne-Ardenne en 2014 et 2015	242
Figure 83. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins Pinot meunier des millésimes 2013 (presseur industriel) et 2015 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	243
Figure 84. Comparaison des paramètres œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier des millésimes 2013 (presseur industriel) et 2015 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	245
Figure 85. Températures moyennes en Champagne-Ardenne en 2013 et 2015	246
Figure 86. Quantité de précipitations et temps d'ensoleillement en Champagne-Ardenne en 2013 et 2015	246
Figure 87. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	248
Figure 88. Comparaison des paramètres œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	249
Figure 89. Comparaison de la concentration en PS totaux (mg/L), MPs (%), PRAGs (%), RG-II (%) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	251
Figure 90. Comparaison de l'évolution des protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins ..	251

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Quantité (mg/baie) des principaux éléments minéraux à maturité.....	21
Tableau 2. Concentration en potassium de la baie à maturité en mg/g de masse fraîche, moyenne sur différents cépages	21
Tableau 3. Composition des moûts durant le pressurage des raisins Pinot meunier 2013.....	79
Tableau 4. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013.....	80
Tableau 5. Protéines identifiées dans le moût S3 de Pinot meunier 2013 (données d'Uniprot et NCBI Inr Viridiplantae and Fungi). MM, masse moléculaire.....	82
Tableau 6. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	86
Tableau 7. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013.....	87
Tableau 8. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013.....	88
Tableau 9. Protéines identifiées dans le vin S3 de Pinot meunier 2013 (données d'Uniprot et NCBI Inr Viridiplantae and Fungi). MM, masse moléculaire.....	91
Tableau 10. Composition en oses des PS (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	92
Tableau 11. Composition en oses des OS (% molaire) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	96
Tableau 12. Composition en acides aminés (%) des fractions PS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	99
Tableau 13. Composition en acides aminés (%) des fractions OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP _f , fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	100
Tableau 14. Evolution de caractéristiques œnologiques des moûts et vins au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013.....	110
Tableau 15. Composition des moûts durant le pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	112
Tableau 16. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I 2015	117

Tableau 17. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015	118
Tableau 18. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY III 2015.....	119
Tableau 19. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	125
Tableau 20. Caractéristiques œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	126
Tableau 21. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I 2015	134
Tableau 22. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015	136
Tableau 23. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY III 2015.....	138
Tableau 24. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I 2015	140
Tableau 25. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015	142
Tableau 26. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY III 2015	144
Tableau 27. Composition des moûts durant le pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle.....	149
Tableau 28. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM I 2015	153
Tableau 29. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM II 2015.....	154
Tableau 30. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM III 2015	155
Tableau 31. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM IV 2015	156
Tableau 32. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	160

Tableau 33. Caractéristiques œnologique des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	162
Tableau 34. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM I 2015	171
Tableau 35. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM II 2015.....	172
Tableau 36. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM III 2015	173
Tableau 37. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM IV 2015	174
Tableau 38. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM I 2015	176
Tableau 39. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM II 2015	179
Tableau 40. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM III 2015	181
Tableau 41. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM IV 2015	183
Tableau 42. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins des 3 stades de maturité au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2015	189
Tableau 43. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins des 4 stades de maturité au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015	190
Tableau 44. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins suivant la maturité des raisins Chardonnay 2015.....	191
Tableau 45. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins suivant la maturité des raisins Pinot meunier 2015.....	192
Tableau 46. Composition des moûts durant le pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	195
Tableau 47. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014	197
Tableau 48. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014.....	198

Tableau 49. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	203
Tableau 50. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	205
Tableau 51. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	206
Tableau 52. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014.....	207
Tableau 53. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014	209
Tableau 54. Composition en oses des PS (mg/L) de vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins.....	219
Tableau 55. Composition en oses des OS (% molaire) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins	220
Tableau 56. Evolution des caractéristiques œnologiques des moûts et vins au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014.....	234

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le Champagne doit en partie son image de marque à l'élégance de son effervescence et à ses propriétés moussantes, caractéristiques jugées par les consommateurs. L'étude de la qualité du Champagne, en particulier des propriétés moussantes des vins de Champagne est une thématique centrale du Laboratoire d'Œnologie et de Chimie Appliquée de l'UFR Sciences de Reims.

Le pressurage est une phase fondamentale de l'élaboration des vins. La réussite de cette opération dépend non seulement du type de pressoir utilisé, mais également des conditions d'utilisation. Un pressoir mal utilisé donnera toujours de mauvais résultats. Les critères œnologiques du pressurage sont connus : une extraction sans actions mécaniques brutales, une obtention de jus clairs en favorisant leur filtration à travers le « gâteau » de vendange, une extraction progressive et sélective, autorisant un fractionnement. L'évolution de la composition des moûts au cours du pressurage et la définition des principaux paramètres permettant de juger de la qualité des moûts extraits, ont fait l'objet de diverses études champenoises (Valade et Blanck, 1989; Blouin, 1998), essentiellement basées sur la comparaison entre Cuvée et Tailles, et avec un nombre de paramètres assez réduit. L'utilisateur ne dispose actuellement que de données quantitatives pour paramétrer le fonctionnement d'un pressoir : temps, pressions, volumes extraits, débits d'écoulement. En ce qui concerne l'impact de la maturité des raisins (encore plus difficile à estimer lorsqu'on observe une hétérogénéité de la vendange) et les conditions d'utilisation du pressoir, il n'existe généralement pas de relations simples et précises entre ces critères et la qualité des moûts extraits. Une évolution de la composition de la vendange en fonction du niveau de maturité a été mise en évidence d'un point de vue histologique, mais son interprétation est incomplète. La composition du jus extrait en fonction du niveau de maturité des baies est fortement corrélée à la perception globale de la typicité. L'objectif de ce projet est donc de concevoir et de mettre à la disposition de l'œnologue un outil permettant de sélectionner des moûts au cours du pressurage en fonction d'un critère qualitatif pertinent, représentatif de l'évolution réelle de la qualité des moûts extraits, donc de la qualité du futur Champagne.

Les protéines et polysaccharides sont les macromolécules principales retrouvées dans le Champagne, lesquelles proviennent du raisin et des micro-organismes tels que les levures, certains champignons ou des bactéries associés à la culture des baies ou à la fermentation du moût. Tandis que des protéines sont impliquées dans la formation et la stabilisation de la mousse du Champagne, aucune étude antérieure n'a été menée sur l'influence des polysaccharides sur les propriétés moussantes de ce vin effervescent.

La pourriture grise constitue actuellement un des soucis majeurs du vigneron, mais aussi de l'œnologue. En effet, les conséquences œnologiques de la présence de la pourriture grise sont multiples et ont des répercussions sur toutes les étapes de la vinification. Une contamination du raisin par le champignon pathogène *Botrytis cinerea* (pourriture grise) est donc un autre paramètre clé dans l'élaboration du Champagne et a un impact sur la qualité et la composition des moûts et des vins de base notamment sur la composition protéique et polysaccharidique. La caractérisation, en particulier, des fractions polysaccharidiques et oligosaccharidiques de vins élaborés à partir de moûts obtenus par fractionnement au pressurage n'a jamais été réalisée lors d'études précédentes. Il est donc important d'étudier et de déterminer la composition et les propriétés moussantes des vins de base de Champagne après une contamination par *Botrytis cinerea*.

Ce mémoire de thèse se décompose en plusieurs parties : dans un premier temps, une étude bibliographique (**chapitre I**) qui fait le point sur les connaissances des principales problématiques de ce sujet, et qui présente la démarche scientifique générale adoptée dans cette étude. La section suivante (**chapitre II**) décrit les matériels et méthodes utilisés au cours des expérimentations lors de cette thèse. La dernière section expose les principaux résultats obtenus et les discussions qui leurs sont associées. Cette section s'articule en quatre chapitres (**chapitres III, IV, V et VI**).

- **Le chapitre III** décrit les travaux effectués sur le cépage Pinot meunier du millésime 2013. Le but de cette étude est de préciser l'impact du fractionnement au pressurage champenois (presseur automatique industriel, capacité 8000 kg) d'une part sur les paramètres œnologiques et la composition protéique des moûts et des vins, et d'autre part sur la composition en polysaccharides, oligosaccharides et acides aminés associés à ces molécules pour les vins de base champenois.

- **Le chapitre IV** s'intéresse à l'étude de l'impact de la maturité des raisins lors du fractionnement au pressurage champenois (presseur de laboratoire) sur la qualité et la composition des moûts et des vins obtenus à partir de raisins Chardonnay et Pinot meunier (vendange 2015).

- **Le chapitre V** étudie l'impact du fractionnement au pressurage champenois (presseur de laboratoire) sur la qualité et la composition des moûts et des vins obtenus à partir des raisins Chardonnay (vendange 2014) sains et contaminés au vignoble par le champignon pathogène *Botrytis cinerea*.

- **Le chapitre VI** porte essentiellement sur une comparaison de l'impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts et des vins au cours des millésimes 2013, 2014, 2015 issus des cépages Chardonnay et Pinot meunier au stade de maturité industrielle.

Enfin, une conclusion présente le bilan des réponses apportées par ces travaux en fonction des objectifs fixés initialement. Cette partie expose également des perspectives de travaux scientifiques traitant des questions soulevées par ce travail, ainsi que des applications à l'échelle industrielle.

CHAPITRE I

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La première partie de cette étude est dédiée à la morphologie et au développement de la baie de raisin. La maturation, au cours de laquelle surviennent les principaux changements en lien avec la qualité finale du raisin, est la clé du développement de la baie de raisin. Dans cette partie, seront explorées également les différentes possibilités pour effectuer au mieux le suivi de la maturité afin de déterminer une date optimale de la vendange. **La deuxième partie** introduit les principales étapes de la méthode champenoise, et en particulier les connaissances acquises à ce jour sur le fractionnement au cours du pressurage des raisins. **La troisième partie** de ce chapitre est consacrée à l'étude bibliographique sur les modalités d'infection de la baie de raisin par *Botrytis cinerea*, responsable de la sécrétion de protéines et de polysaccharides qui sont néfastes pour la qualité des moûts et des vins de Champagne.

1. Le raisin

1.1. Généralités

Le raisin, fruit de la vigne *Vitis vinifera*, est l'un des fruits les plus connus et les plus cultivés dans le monde. Les plus grands producteurs de raisins sont la France, l'Espagne et l'Italie. Le *Vitis vinifera* comprend à l'échelle mondiale environ 6000 variétés appelées cépages, la France en possédant approximativement 2000 en collection dont environ 200 sont largement cultivés (Carbonneau *et al.*, 2017).

1.2. Le vignoble de l'appellation Champagne

Situé en France à environ 150 kilomètres à l'est de Paris, le vignoble champenois s'étendait sur quelques 50000 hectares avant le début de la révolution française. Dans la seconde moitié du XIX^e siècle, le vignoble atteint 65000 hectares, soit son expansion maximale comprenant même 2500 hectares dans le département des Ardennes. Après les fléaux du phylloxéra et de la Grande guerre, le vignoble s'est réduit à 12000 hectares. Au début du XXI^e siècle, la surface plantée du vignoble champenois est en augmentation. Cette surface totale du vignoble est répartie sur cinq départements : la Marne avec 23555 hectares de surface en production, l'Aube avec 6498 hectares, l'Aisne avec 2236 hectares, la Haute-Marne avec 31 hectares, et la Seine-et-Marne avec 21 hectares (CCIRE, 2007).

Le Champagne, un des vins les plus célèbres du monde, est un vin effervescent français protégé par une Appellation d'Origine Protégée, dont la réglementation est le résultat de plusieurs siècles de savoir-faire. Son nom vient de sa région : la Champagne. La délimitation géographique, les cépages, les rendements et l'ensemble de l'élaboration du Champagne sont les principales spécificités de l'appellation.

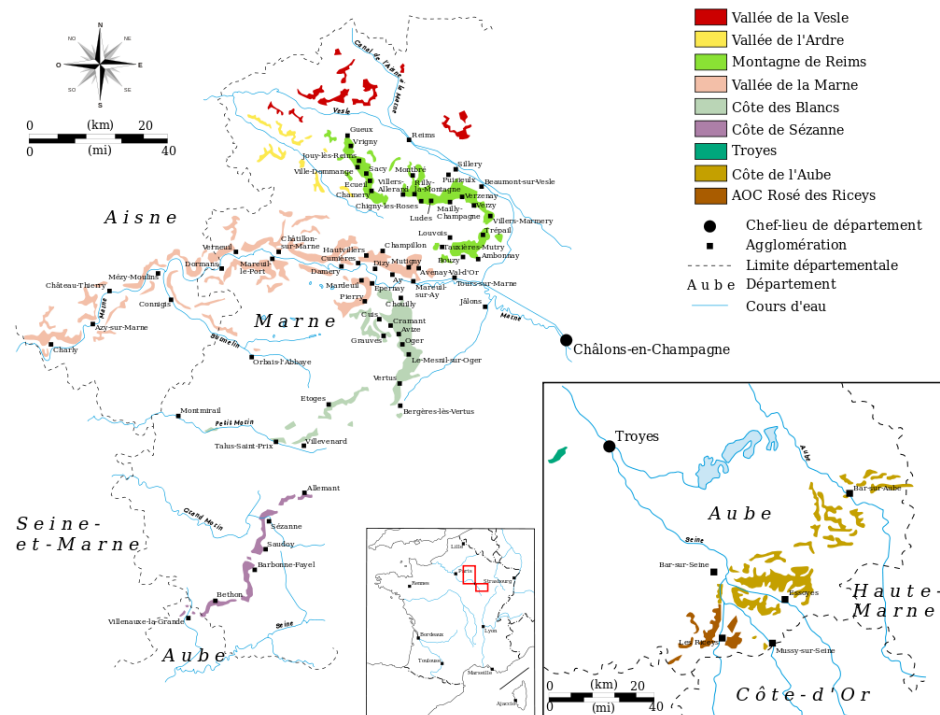


Figure 1. Carte du vignoble de Champagne
 (https://fr.wikipedia.org/wiki/Vignoble_de_Champagne)

1.3. La baie de raisin

La vigne cultivée (*Vitis vinifera* L.) est une plante essentiellement autogame. Suite à la fécondation, les fleurs issues de ses inflorescences conduisent à des grappes de raisin. Le raisin contient à sa maturité principalement de l'eau et des sucres. Ces baies appartiennent à la famille des fruits simples aux péricarpes entièrement charnus. La baie des raisins est composée de trois parties : la pellicule (ou l'épicarpe), la pulpe (ou le mésocarpe) et les pépins (ou l'endocarpe) (Coombe, 1987).

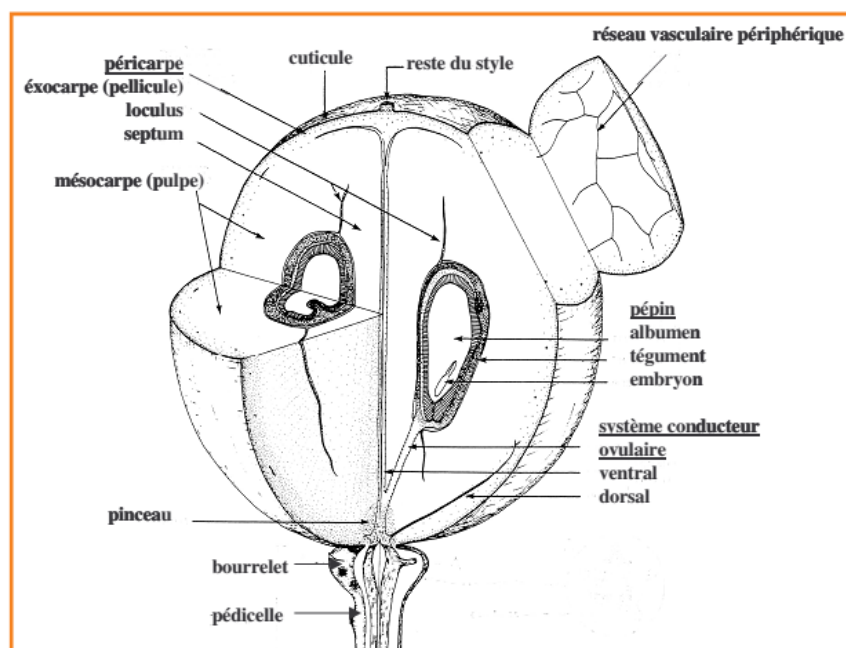


Figure 2. Schéma d'une baie de raisin
(Coombe, 1987)

1.3.1. La pellicule

La pellicule est l'enveloppe du raisin. Son poids représente en moyenne 10 à 15% du poids total de la baie (Heredia, 2003). Elle est constituée de la cuticule (composée de polysaccharides et d'acides gras hydroxylés), membrane extérieure très mince et imperméable aux levures qui protège contre les dommages causés par des blessures mécaniques (Hilz *et al.*, 2006), de l'épiderme (une seule couche de cellule sous la cuticule) et de l'hypoderme (renfermant les granulations de matière colorante pour les cépages à peau noire et odorante).

La pellicule renferme :

- Des matières colorantes ou pigments (composés polyphénoliques) pour le Pinot noir et le Pinot meunier en Champagne. On peut considérer cette pellicule comme un « concentré » de polyphénols parmi lesquels on retrouve des flavones, des anthocyanes (tous les deux pigments colorants) et des stilbènes, comme le resvératrol. Ces matières colorantes possèdent une composition chimique proche de celle des tanins qui sont constituées soit de polyol (glucose le plus souvent), ou de catéchine ou de triterpénoïde auquel sont liés des unités galloyles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols.

- Des substances aromatiques qui sont des essences odorantes caractéristiques de certains cépages et qui donnent un goût fruité au vin (même si les cépages champenois ne sont pas classés dans la catégorie des vins dits aromatiques).

1.3.2. La pulpe

La pulpe est constituée de 25 à 30 couches de cellules qui peuvent atteindre une taille de 400 µm à la fin du stade de maturation (Ollat *et al.*, 2002). A maturité, la pulpe représente de 90 à 95% du poids du raisin. Ses cellules possèdent des vacuoles représentant 99% de leur volume et sont remplies majoritairement d'acides organiques et de sucres (Diakou et Carde, 2001; Kennedy *et al.*, 2002; Conde *et al.*, 2007).

Les parois des différentes zones de la pulpe sont très minces et susceptibles de se lacérer. On y distingue :

- Une zone externe, peu épaisse ; elle tapisse la face interne de la pellicule de raisin.
- Une zone intermédiaire, la plus volumineuse ; c'est elle qui libère le jus en premier lors du pressurage de grappes entières et saines.
- Une zone interne/centrale qui contient les pépins.

1.3.3. Les pépins

Les pépins devraient être au nombre de 4, mais on peut en trouver 3 ou 2 plus fréquemment, et un ou deux peu développés. Ils sont situés au centre de la baie, baignés par la pulpe et alimentés par le pinceau. Ils contiennent de l'eau, des tanins, des huiles, des matières acides, et des matières azotées et pectiques.

Les pépins sont constitués d'un embryon et d'un albumen. Ils représentent jusqu'à 6% du poids total de la baie. Ils ont une forte charpente de cellulose et contiennent de 5 à 8% de tanins. Ils ont des goûts grossiers, qui peuvent apporter beaucoup d'astringence, et contiennent également de 10 à 12% d'huiles qui nuisent à la qualité des vins (Cabanis et Cabanis, 1998). Lors du pressurage de grappes entières, il n'y a pas de libération de composés des pépins qui ne subissent pas de forces suffisantes pour être écrasés, même partiellement.

1.4. Développement de la baie de raisin

1.4.1. Les phases de développement d'une baie de raisin

Le développement de la baie se déroule en trois étapes ou phases qui suivent une courbe sigmoïde double comme illustré par la courbe de croissance de la Figure 3 (Harris *et al.*, 1968; Coombe, 1973; Pirie et Mullins, 1980; Coombe, 1992) :

- Phase 1 : La phase de croissance herbacée (ou stade vert) dure de 5 à 10 jours après la floraison ;
- Phase 2 : La phase de ralentissement de croissance dure de deux à trois semaines après la phase 1 ;
- Phase 3 : La seconde phase de croissance (la maturation) dure de 35 à 65 jours après la phase 2.

Le nombre de stades de croissance dépend des conditions environnementales, du cépage, des pratiques culturales, de la radiation solaire, de la température et de l'humidité reçue (Coombe, 1973; Hrazdina *et al.*, 1984), lesquelles peuvent faire varier la durée de développement de la baie, de la floraison à la maturité. Chaque baie se développe indépendamment et n'est pas influencée par les baies adjacentes qui mûrissent plus ou moins rapidement (Coombe, 1992).

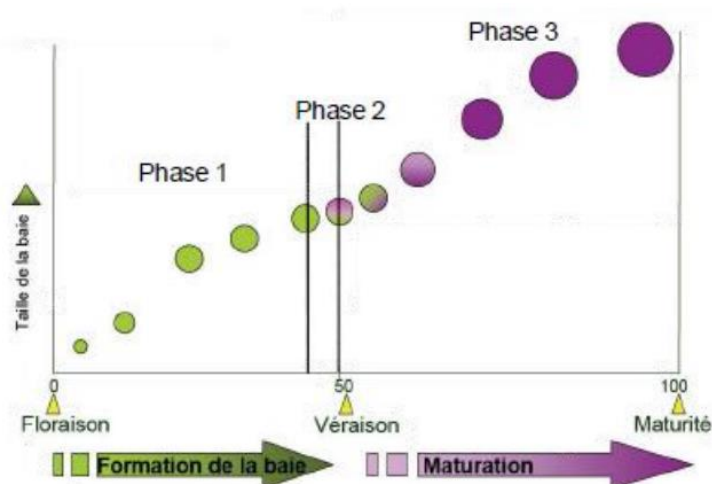


Figure 3. Phases de développement de la baie de raisin
(Kennedy, 2002)

1.4.1.1. Phase 1 : Phase de croissance herbacée (ou stade vert)

La première étape du développement de la baie se produit juste après la floraison. Elle est caractérisée par une croissance rapide, la formation des pépins et l'accumulation d'acides. La plus grande croissance des péricarpes (la peau et la pulpe) et la division cellulaire ont lieu dans les 5 à 10 jours après la floraison (Coombe, 1973; Considine et Knox, 1979). Cette première phase de développement dure de 45 à 65 jours selon le cépage et les conditions environnementales.

La phase de croissance herbacée peut être divisée en trois périodes (Ojeda *et al.*, 1999):

- La première période débute à l'anthèse et s'achève environ cinq jours après. Elle est caractérisée par de nombreuses divisions cellulaires à l'origine de l'augmentation du volume de la

baie. La majorité des divisions cellulaires a lieu jusqu'à 10 jours après l'anthèse (Coombe, 1960), fixant ainsi le nombre définitif de cellules de la baie (Coombe, 1973; Dokoozlian, 2002).

- La deuxième période dure de 5 jours à 35 jours après l'anthèse. Elle se caractérise par un ralentissement des divisions cellulaires et par l'induction de l'expansion des cellules (Coombe, 1976; Kennedy, 2002; Liang *et al.*, 2005). Cette expansion est principalement due à une accumulation d'eau et d'acides organiques (acide malique et tartrique essentiellement) dans les vacuoles (Possner et Kliever, 1985) qui augmentent le volume des cellules du péricarpe (Roubelakis-Angelakis, 2002). La concentration en acides tartrique et malique est plus élevée dans la partie intermédiaire de la baie (Coombe et McCarthy, 2000; Kennedy, 2002).

- La troisième période représente la dernière semaine de la phase 1 du développement de la baie, au cours de laquelle les divisions cellulaires s'arrêtent complètement, alors que l'expansion cellulaire continue. A l'issue de cette première phase de croissance, la baie est ferme et de couleur verte en raison de la présence de chlorophylle dans les cellules de la pellicule, pigment prédominant durant cette phase. L'activité métabolique soutenue est caractérisée par une intensité respiratoire élevée ainsi qu'une accumulation rapide d'acide malique et d'acide tartrique (Coombe et McCarthy, 2000; Kennedy, 2002).

1.4.1.2. Phase 2 : Phase de ralentissement de croissance

Cette phase dure de deux à trois semaines. Elle est caractérisée par un arrêt ou un ralentissement de la croissance qui sépare la phase de croissance herbacée de la phase de maturation du fruit. La photosynthèse, la respiration ainsi que la concentration en chlorophylle sont réduites. L'acide malique a une concentration supérieure à celle de l'acide tartrique et tous deux atteignent leurs valeurs maximales (Coombe et McCarthy, 2000). A la fin de cette phase, le taux de chlorophylle commence à baisser (Dokoozlian, 2002). Cette étape commence environ 40 jours après la floraison et peut durer de 7 à 40 jours selon le cultivar (Coombe et McCarthy, 2000).

1.4.1.3. Phase 3 : Seconde phase de croissance (la maturation)

Au début de la troisième étape appelée véraison (Kennedy, 2002), plusieurs changements physiologiques se produisent presque instantanément, en 24 à 48 heures, au cours de la transition entre la deuxième et la troisième phase. Ces changements physiologiques initialisent une nouvelle croissance des baies : ramollissement des baies, début de la synthèse des anthocyanes (changement de la couleur des baies pour les variétés rouges), diminution des acides organiques, augmentation

de la teneur osidique par accumulation des sucres (fructose et glucose) ainsi qu'une augmentation des concentrations en proline et en arginine (Mullins *et al.*, 1992; Coombe et McCarthy, 2000; Roubelakis-Angelakis, 2002). La maturation est aussi caractérisée par l'accumulation d'autres molécules essentielles à la qualité des vins comme les composés phénoliques et les précurseurs d'arômes.

C'est au cours de cette phase que l'augmentation de la teneur en anthocyanes est significative tandis que la teneur en chlorophylle diminue entièrement lors de cette étape. Le potassium, les anthocyanes et les hexoses s'accumulent dans la pellicule, ces derniers s'accumulant également dans la pulpe (Pirie et Mullins, 1980; Coombe et McCarthy, 2000).

La phase de maturation dure de 35 à 65 jours (Mullins *et al.*, 1992). A la fin de cette étape, la baie va commencer à se déformer (Pirie et Mullins, 1980). La taille des baies commence à diminuer, en raison de la perte d'eau par transpiration continue, mais la quantité des solutés par baie reste constante (Coombe et McCarthy, 2000).

La qualité finale de la baie de raisin dépend de cette étape qui détermine l'acidité, le taux de sucres, la couleur et la saveur (Roubelakis-Angelakis, 2002).

Les acides titrables, les sucres et le rapport sucres/acidité totale sont utilisés comme indicateurs de la maturité (Guelfat-Reich et Safran, 1971; László et Saayman, 1991; Jayasena et Cameron, 2008). La date de récolte est déterminée par l'acidité du cépage de la façon suivante : un niveau minimum de degré brix est utilisé pour les cépages pauvres en acides. L'acidité titrable est utilisée pour les cépages de haute acidité alors que le rapport sucres/acidité totale est utilisé pour les cépages d'acidité moyenne (Guelfat-Reich et Safran, 1971). Le rapport sucres/acidité totale est un signe de l'évolution de la maturation et les valeurs comprises entre 35 et 50 représentent une bonne qualité de vendange (Dupuch, 1997). En Champagne, cet indicateur se trouve généralement entre 17 et 25 (Reynier, 2012).

1.4.2. La maturité des raisins

La maturation des baies de raisin est définie comme la période qui conduit de la véraison à la récolte. C'est au cours de cette période qu'ont lieu des événements biochimiques majeurs impactant la qualité finale des raisins (Figure 4). Selon les objectifs choisis et les critères d'appréciation retenus, on peut distinguer différentes maturités :

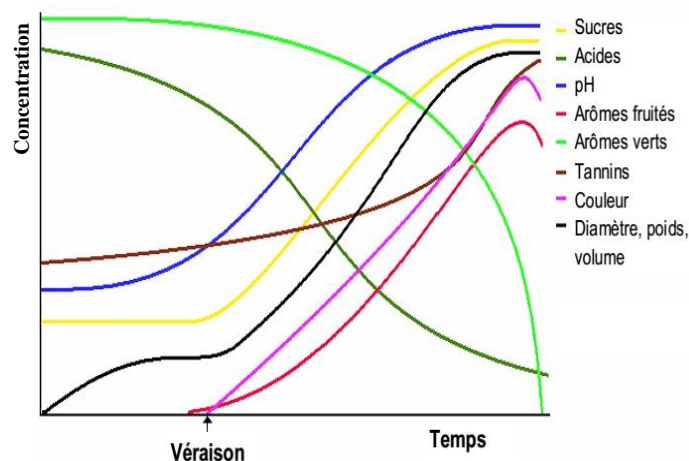


Figure 4. Evolution des composés d'intérêt majeur au cours de la maturation (Rotter, 2004)

La maturité physiologique : se produit tôt après la véraison, les pépins sont prêts à germer, cette maturité est sans incidences œnologiques. Cet aspect est toujours négligé par le vigneron car sans importance technologique, mais il est fondamental : la vigne peut se reproduire (Blouin et Gimberteau, 2000).

La maturité phénologique : la vigne a réalisé son cycle végétatif normal, de 40 à 50 jours après la véraison. En Champagne, on vendange de 20 à 30 jours après la véraison. La maturité phénologique est un repère essentiel pour le choix de la date optimale de récolte. Le climat change fortement les caractéristiques du raisin mûr mais ne modifie que très légèrement la durée de la maturation (Blouin et Gimberteau, 2000).

La maturité technique : correspond soit à une teneur maximale en sucres, soit à une valeur limite d'acidité, soit au rapport sucres sur acidité totale (S/A.T.) donnant l'indice de maturité. Cet indicateur aide les viticulteurs pour le choix d'une date de vendange. En Champagne, cet indicateur se trouve généralement entre 17 et 25 (Reynier, 2012).

Selon le type de vin, les conditions climatiques, la région de production et le millésime, le vinificateur devra trouver le meilleur compromis entre la teneur en sucres et en acidité totale au moment de la récolte. C'est pourquoi les cahiers des charges des appellations imposent généralement une concentration en sucres minimale pour avoir le droit de récolter. Il est possible de déroger au ban des vendanges dans deux cas : lorsque le titre alcoométrique volumique (TAV) potentiel est supérieur à 10 % volume ou si l'état sanitaire du vignoble le nécessite.

La maturité aromatique : Le potentiel aromatique du raisin recouvre un grand nombre de composés aromatiques primaires, présents dans le raisin. Les conditions climatiques sont déterminantes : un climat très chaud a pour conséquence une maturation aromatique trop rapide et l'intensité et la qualité des arômes ne seront pas forcément les meilleures. La maturité aromatique détermine donc le moment où les arômes du cépage sont les plus expressifs, chaque cépage ayant ses arômes types. Ces composés aromatiques sont difficiles à doser, par conséquent le suivi analytique est impossible pour la majorité des exploitations.

La maturité phénolique : elle correspond à la maturité de la pellicule (anthocyanes, tanins) et à la maturité des pépins (tanins) : concentration maximale en "tanins qualitatifs". Leurs concentrations varient en fonction de leurs structures (polymérisation) et de leur origine (pépins et pellicules) (Blouin et Gimberteau, 2000). La teneur en composés phénoliques totaux (dosage spectrophotométrique à 280 nm), la teneur en anthocyanes (dosage à 520 nm) ou le rapport anthocyanes/tanins sont des indicateurs classiques de la maturité phénolique des cépages destinés à élaborer des vins rouges.

La maturité œnologique : la seule maturité pour le vinificateur – elle doit prendre en compte et optimiser l'ensemble des maturités en fonction des vins recherchés (vins de chaudière, vins de base pour effervescents, vins primeurs, vins de garde, vins de surmaturation, vins de glace, vins doux naturels) (Blouin et Gimberteau, 2000).

La maturité texturale : la qualité du raisin et la détermination de la date optimale de vendange pour l'élaboration des vins sont définies de manière traditionnelle par des indices de maturité basés sur les teneurs en sucres, en acides et en composés phénoliques. Beaucoup de professionnels constatent les limites actuelles de ces indicateurs pour décider du choix de l'itinéraire technologique de vinification. Les travaux antérieurs (Le Moigne *et al.*, 2008; Maury *et al.*, 2008) ont montré l'intérêt de développer des mesures "multicritères" d'approche de la qualité des raisins, intégrant la notion de maturité texturale à celle de maturité technologique et phénolique. La texture de la pellicule de raisin, et en particulier sa résistance, sa capacité à se dilacérer et son élasticité sont en lien avec l'extractibilité des composés phénoliques au cours de la maturation. La maturité texturale démontre l'intérêt d'un nouvel indicateur d'estimation de la maturité du raisin prenant en compte d'une part les variations de texture de la pellicule et des pépins du raisin évaluées de manière instrumentale et d'autre part la variation des teneurs en composés phénoliques ainsi que leur extractibilité.

La texture est une mesure couramment utilisée sur d'autres fruits, pour définir leur maturité, leur aptitude à la conservation et à la transformation et permet d'apprécier leur qualité. Une analyse de la texture des baies de raisin par une méthode physique et une méthode sensorielle, tout au long de la maturation. Des corrélations sont observées entre certains paramètres de texture comme la pression et des descripteurs sensoriels comme la dilacération de la pellicule afin de caractériser et différencier la maturité des raisins à travers une approche instrumentale et sensorielle.

1.5. Composition chimique du raisin et évolution au cours de la croissance et de la maturation de la baie de raisin

1.5.1. Les substances pectiques

Les substances pectiques sont les constituants principaux des parois de toute cellule végétale. Dans le raisin, elles sont présentes dans la paroi des cellules de la pellicule et de la pulpe. A la suite de la dégradation enzymatique de parois cellulaires, certaines d'entre elles se retrouvent donc solubilisées dans le moût au cours du pressurage (Blouin et Gimberteau, 2000).

Des études récentes sur leur structure ont permis de les classer en deux grands groupes :

Les substances pectiques majoritairement acides, encore appelées « pectines ». Elles constituent un groupe de PS composés principalement d'acide galacturonique et sont subdivisées en trois types différents : homogalacturonanes (HM), rhamnogalacturonanes I (RG-I) et rhamnogalacturonanes II (RG-II).

Les HM, dont une proportion variable d'acide galacturonique est estérifiée par du méthanol dans le raisin, ont un degré d'estérification de l'ordre de 70 à 80%. Les RG-I sont caractérisés par la présence d'unités de rhamnose tandis que les RG-II sont des PS complexes qui portent des oses, tels que le galactose, l'arabinose, le rhamnose, le xylose, l'apiose (del Barrio-Galán *et al.*, 2015; Doco *et al.*, 2015; Gil *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016, 2017).

Les substances pectiques majoritairement neutres sont nommées « gommés ». Elles comprennent des arabinanes, des galactanes et des arabinogalactanes de type I et II (AG-I et AG-II).

Les arabinanes sont constitués d'une chaîne principale d'unités arabinose portant quelques ramifications d'arabinose. Les galactanes sont constitués de plusieurs molécules de galactose. Les

AG-I ont une chaîne principale de galactane sur laquelle sont branchées de courtes chaînes d'arabinose. Les AG-II, constituées essentiellement de galactose et d'arabinose, comportent en plus et en proportions variables, du rhamnose, du mannose, du glucose, du xylose et des acides uroniques. Les AG-II sont souvent associés à des protéines représentant 2 à 10% de la molécule ; la composition en acides aminés de ces protéines est caractérisée par un taux élevé en hydroxyproline, sérine, alanine et glycine (Blouin et Gimberteau, 2000).

Au cours de la maturation, les modifications les plus importantes des polysaccharides pectiques concernent la solubilisation et la dépolymérisation des pectines, donc la perte de galactose des chaînes latérales pectiques et l'augmentation de pectines solubles (Gross et Sams, 1984; Carrington *et al.*, 1993; Rosli *et al.*, 2004). La diminution des hémicelluloses, de la cellulose et des pectines insolubles suggère une hydrolyse des PS structuraux de la paroi cellulaire des pellicules de raisin (Huang *et al.*, 2005).

Les pectines sont synthétisées puis transportées par des enzymes dans l'appareil de Golgi, avec un degré de méthylation élevé (Liners et Van Cutsem, 1992) qui est le second phénomène majeur de modification des PS. Au cours de la maturation de la baie de raisin, la pectine méthylestérase (PME) est responsable de la déméthyl-estérification des pectines (Barnavon *et al.*, 2001; Willats *et al.*, 2001; Delsart *et al.*, 2016). La diminution du degré de méthylation semble augmenter les zones de jonction des chaînes homogalacturoniques par la formation d'interactions de type "egg box" avec les ions calcium (Rees, 1982).

Le développement de *Botrytis cinerea* sur les baies entraîne une sécrétion d'endopolygalacturonases, responsables de l'hydrolyse des pectines du raisin. Par conséquent, la teneur en PS totaux augmente par la formation, d'une part, de glucanes constitués de l'assemblage de nombreuses unités de glucose, et d'autre part d'hétéropolysaccharides (Donèche, 1991; Blouin et Gimberteau, 2000). Dans les raisins, les glucanes sont situés dans les assises sous-épidermiques de la pellicule. Il s'ensuit que tout traitement mécanique de la vendange, qui endommage la pellicule, entraîne une augmentation de la teneur en glucanes des moûts et donc des vins.

1.5.2. Les sucres

Dans les raisins, les sucres sont principalement représentés par le glucose et le fructose ; à maturité, ils sont en quantités sensiblement égales. Ces sucres appartiennent au groupe chimique des hexoses (oses comportant six atomes de carbone ; dans le langage courant, ils sont rassemblés sous les termes de sucres fermentescibles c'est-à-dire transformés au cours de la fermentation alcoolique) ou des sucres réducteurs. Le glucose et le fructose représentent généralement plus de 99% des hydrates de carbone dans le moût. Le jus de raisin mûr contient de 12% à 27% de sucres, composés

de glucose et de fructose (Winkler *et al.*, 1974). Au cours de la maturation, environ 5% des hexoses proviennent aussi de la transformation de l'acide malique contenu dans la baie (Boulet *et al.*, 2007).

L'accumulation de glucose et de fructose correspond à trois phases distinctes au travers du développement des baies (Coombe et Nii, 1983; Hrazdina *et al.*, 1984). Au cours des premières semaines du développement des baies, le glucose et le fructose restent à des concentrations constantes mais faibles. Au cours de la deuxième étape, juste après la véraison, la concentration en glucose et en fructose augmente à la fois dans la pulpe et dans la peau (Coombe et Nii, 1983). Dans la dernière étape, le taux d'accumulation des sucres diminue (Coombe, 1980).

Le saccharose est produit dans les feuilles au cours de la photosynthèse et est transporté via le phloème vers les autres organes de la plante (sarments, pétioles, rafles). Lors du mûrissement des fruits, le taux de saccharose croît généralement très rapidement, mais le cas du raisin ne contiennent quasiment pas de saccharose. La concentration des baies en sucres réducteurs est variable, souvent comprise entre 160 et 250 g/L à maturité (Blouin et Gimberteau, 2000). En surmaturité, la concentration peut aller à plus de 350 g/L de sucre (www.ecole-muscadelle.fr). Dans quelques cas, elles peuvent être nettement supérieures (conditions climatiques particulières, cépages qui accumulent beaucoup de sucres) (Blouin et Gimberteau, 2000).

1.5.3. Les acides organiques

Les acides organiques jouent un rôle important dans l'acidité des moûts (Galet, 2000) et donc des vins, dans l'équilibre général, mais également dans la conservation des vins. Leur nature et leur concentration règlent les équilibres acides-bases et, de ce fait, commandent le goût acide du vin. Les acides sont stockés principalement dans la pulpe des baies. En Champagne, la valeur de l'acidité totale des moûts est de 140 à 176 milliéquivalents par litre (Tusseau *et al.*, 2017).

L'évolution de l'acidité ne se résume pas simplement à déterminer, à des dates plus ou moins rapprochées l'acidité de titration ou le pH. L'acidité du raisin est due essentiellement à deux acides organiques : l'acide tartrique et l'acide malique représentant 90% à 95% de l'acidité des baies. Chacun de ces acides a un comportement qui détermine, au moment de la récolte, le taux en acidité des raisins. Ceux-ci joueront un rôle important sur la composition finale des vins et leurs caractères organoleptiques. L'acide malique, l'acide tartrique et leur balance acido-basique avec le cation majoritaire du raisin, K^+ , sont responsables de 90% de cette acidité (Conde *et al.*, 2007).

Au cours de la période herbacée, on observe dans le raisin vert une accumulation d'acide malique. Dans la baie de raisin, la teneur en acide malique est maximale à l'approche de la véraison, 250 à 350 milliéquivalents par litre, soit 17 à 23 g/L (Blouin et Gimberteau, 2000), puis sa quantité ainsi que sa concentration diminuent au cours de la maturation (Figure 5A et Figure 5B). En Champagne, la teneur en acide malique des moûts est de 4,9 à 8,6 g/L (Tusseau *et al.*, 2017).

Durant toute la maturation, la dégradation est plus intense que la synthèse et on assiste à une diminution, plus ou moins rapide, de la teneur en acide malique en fonction, principalement, de la température des raisins. L'activité métabolique étant liée à la température environnante, les raisins récoltés en régions froides sont toujours plus riches en acide malique que ceux des régions chaudes. Dans les zones tempérées fraîches, sa concentration dans le moût varie de 4 à 8 g/L et dans les régions chaudes de 1 à 2 g/L (Blouin et Gimberteau, 2000).

L'acide tartrique est aussi un produit du métabolisme des sucres et l'acide ascorbique est actuellement considéré comme l'intermédiaire principal des réactions conduisant à sa formation.

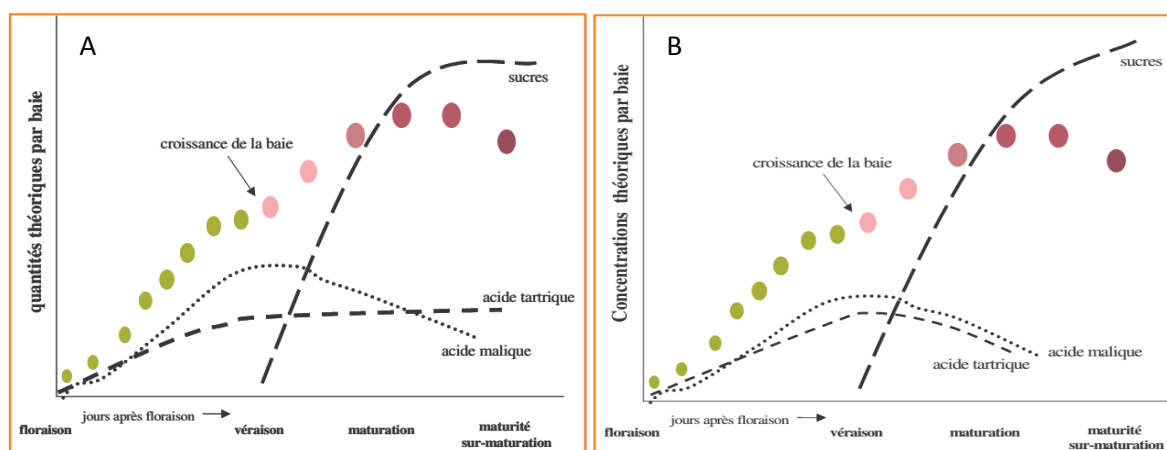


Figure 5. Evolution des 2 principaux acides organiques de la baie (D'après Schaller, 1999)

A : en quantité ; B : en concentration

L'acide tartrique est synthétisé en quantité importante dans les très jeunes feuilles et dans les baies vertes. Il est ensuite transporté vers les racines, qui sont également riches en cet acide, et s'accumule dans la plante sans subir d'importantes transformations, en raison d'un métabolisme très lent. Sa production diminue rapidement pour devenir extrêmement faible à partir de la véraison (Blouin et Gimberteau, 2000; Kurt *et al.*, 2017). En Champagne, la teneur en acide tartrique des moûts est comprise entre 7,3 à 8,7 g/L (Tusseau *et al.*, 2017).

A partir de la véraison et durant la maturation du raisin, la quantité d'acide tartrique par baie reste stable, alors que sa concentration diminue par augmentation du volume de la baie (effet de dilution, Figure 5A et Figure 5B). A maturité, sa concentration peut atteindre de 3 à 9 g/L selon les cépages et l'alimentation en eau de la vigne (Blouin et Gimberteau, 2000). Les conditions extérieures influencent la teneur en acide tartrique ; ainsi une période chaude et sèche va changer sa valeur (par photosynthèse) et au contraire une période pluvieuse provoque un accroissement brusque de sa teneur dans les raisins (Galet, 2000).

Les acides de la baie vont participer à l'acidité des vins, à la couleur, à l'aspect sensoriel et à l'état sanitaire des vins.

1.5.4. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont présents dans la vigne comme ils le sont dans tous les végétaux. Ils sont, dans la nature, représentés par plusieurs centaines de composés de structure chimique différente mais ayant en commun une ou plusieurs fonctions phénol. Dans la baie de raisin, les composés phénoliques sont essentiellement présents dans les pépins et la pellicule (Blouin et Gimberteau, 2000).

Les composés phénoliques exercent une influence majeure sur la qualité des vins rouges. D'un point de vue chimique, les composés phénoliques sont caractérisés par un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles et dérivent de la voie de l'acide shikimique (Escarpa, 2001; Sarni *et al.*, 2006). Leur nomenclature est basée sur la distinction entre les composés flavonoïdes et non-flavonoïdes qui ne possèdent pas de squelette « flavone » (Fang *et al.*, 2007 ; Rodríguez Vaquero *et al.*, 2007).

La répartition des composés phénoliques à l'échelle cellulaire est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : d'une part la paroi cellulaire où sont présentes les lignines (et quelquefois certains flavonoïdes et des molécules associées aux lignines comme l'acide férulique) et d'autre part la vacuole où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyanes, flavonols, tanins...) (Le Bourvellec, 2005). Certains flavonoïdes (quercétine, kaempférol) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique (Peer *et al.*, 2001) mais toujours à très faible concentration.

A l'échelle tissulaire, des répartitions très inégales des différents composés phénoliques ont été notées. Dans les raisins, les composés phénoliques sont majoritairement trouvés dans la peau et les pépins et sont extraits dans les vins lors de la vinification (Katalinić *et al.*, 2010). Les conséquences technologiques de ces différentes situations sont extrêmement importantes lors de la vinification car la diffusion des anthocyanes dans le moût est lente à partir de la seule pellicule (Macheix *et al.*, 2006). Les types et les concentrations de ces composés dépendent d'un certain nombre de facteurs : la variété de raisin, le stade de maturation, le sol, les conditions climatiques, la culture de la vigne et le traitement auquel elle est soumise (Gómez-Alonso *et al.*, 2007; Rodríguez Vaquero *et al.*, 2007).

Au cours du pressurage des raisins et de la vinification, les composés polyphénoliques participent à divers types de réactions, conduisant à la formation d'une multiplicité de leurs structures nouvelles (Cheynier *et al.*, 1993).

Durant la phase d'extraction des moûts et plus précisément après le premier rebêchage, les jus extraits à partir des cellules du raisin sont mis en présence d'une grande quantité d'air et d'oxydases. Ces enzymes d'oxydation telles que la tyrosinase, enzyme naturelle du raisin et la

laccase, enzyme libérée par *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise, sont lors du pressurage au maximum de leur activité. L'oxygène n'étant pas un facteur limitant, les conditions sont idéales pour l'oxydation des composés oxydables tels que les polyphénols et indirectement le glutathion. A ce stade, les cinétiques d'oxydation sont très rapides et ont pour conséquence finale un brunissement des jus et une disparition totale des antioxydants du raisin (le glutathion). La vitesse de consommation et la quantité totale d'oxygène consommée dépendent du cépage, de la maturité du raisin et de l'état sanitaire (le type et la quantité de polyphénols vont fortement varier en fonction du type de cépage) (Dubourdiou et Lavigne, 2003).

Les processus de dégradation et d'évolution des polyphénols intervenant au cours de la vinification sont principalement régis par deux types de mécanismes : le premier fait intervenir des réactions biochimiques, catalysées par différentes enzymes, tandis que le second relève de phénomènes chimiques. Toutes ces réactions aboutissent à de nouveaux produits par formation ou rupture de liaisons covalentes. En outre, les polyphénols des vins sont impliqués dans des phénomènes d'interactions moléculaires, faisant appel à des liaisons de faible énergie. Les réactions sous la dépendance d'activités enzymatiques sont de moindre importance en vinification en rouge et ne seront donc pas abordées.

Les polyphénols (composés phénoliques) sont des molécules supports des principales propriétés organoleptiques des vins. Ils sont largement présents dans le vin, plus présents d'ailleurs dans les vins rouges que dans les vins blancs. On trouve en particulier :

- des tanins (1 à 3 g/L), responsables des propriétés gustatives. L'astringence est due aux tanins catéchiques qui précipitent les protéines salivaires, entraînant cette sensation de sécheresse buccale ;
- des anthocyanes, pigments rouges responsables de la couleur des vins rouges ;
- des flavones, matières colorantes jaunes qui donnent leur couleur aux vins blancs ;
- des acides phénols, dont la présence doit être particulièrement prise en compte au cours de l'élaboration des vins blancs (Blouin et Gimberteau, 2000).

1.5.5. Les substances azotées

Dans la baie, l'azote peut se trouver sous forme minérale (ion ammonium NH_4^+ ; ion nitrate NO_3^- ; ion nitrite NO_2^-) et organique (acides aminés libres, protéines et autres composés azotés organiques tels que l'urée, le carbamate d'éthyle et des acides nucléiques). Il y a une accumulation d'azote total de la véraison à la mi-maturité et en fin de maturation.

A maturité, la teneur en azote total de la pellicule peut être deux fois plus élevée qu'au stade véraison et jusqu'à trois ou quatre fois plus élevée pour la pulpe (Blouin et Gimberteau, 2000). La teneur en azote total du moût pour un même cépage dépend fortement des conditions culturales et de la nature des sols.

L'azote sous forme de cation ammonium peut représenter, avant la véraison, jusqu'à 80% de l'azote total, mais diminue de 5 à 10% durant la phase de maturation. A la fin de la maturation, il ne représente plus que le cinquième, souvent moins. Il est apporté dans la baie d'une manière continue mais entre la véraison et la récolte, il est transformé en acides aminés qui, à leur tour, forment les oligopeptides, les polypeptides et les protéines. Les teneurs en NO_3^- et NO_2^- sont négligeables (Blouin et Cruège, 2003).

L'azote ammoniacal a pour origine les nitrates puisés dans le sol par les racines. Il s'ensuit que, selon la nature des sols, la fertilisation et l'alimentation en eau de la vigne, la teneur en azote ammoniacal dans la baie est très variable. En Champagne, la teneur en azote total et en azote ammoniacal des moûts est respectivement de 273 à 411 mg/L et de 86 à 147 mg/L (Tusseau *et al.*, 2017).

L'azote organique, notamment sous forme d'acides aminés, augmente au cours de la maturation et va représenter 50 à 90% de l'azote total dans les raisins à maturité. L'azote assimilable, environ 150 à 200 mg/L, représente l'azote fermentescible par les levures au cours de la fermentation alcoolique. Il est mesuré dans les moûts afin d'ajuster si nécessaire la teneur avant le début de la fermentation (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).

L'accumulation des acides aminés libres est généralement expliquée par le ralentissement de la croissance de la baie et une réduction de l'activité pré-synthétique (Blouin et Gimberteau, 2000).

1.5.6. Les substances minérales

Les substances minérales viennent du sol et transitent principalement par la sève xylémienne. Elles sont surtout localisées dans les parties solides des baies (pellicules, parois des cellules de la pulpe, pépins) et dans les rafles (Blouin et Gimberteau, 2000).

La baie accumule tout au long de sa croissance (phase herbacée ou maturation) majoritairement du potassium, du calcium, du phosphore et du magnésium (Figure 6). Le potassium est accumulé avant et après la véraison, alors que le calcium, le phosphore et le magnésium sont accumulés préférentiellement avant la véraison (Schaller, 1999).

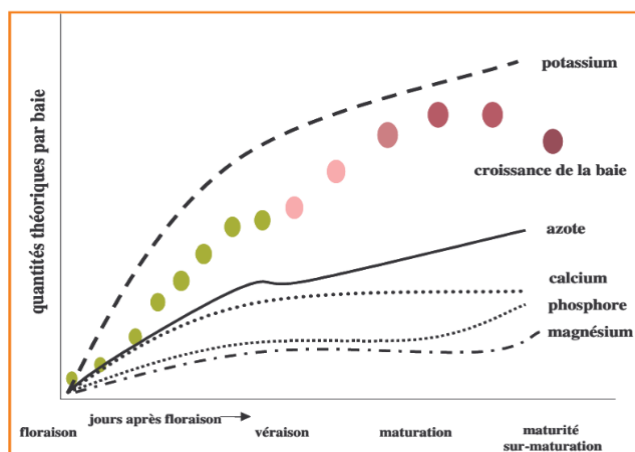


Figure 6. Evolution des principaux éléments minéraux de la baie du cépage Riesling (D’après Schaller, 1999)

Le potassium est principalement localisé dans les compartiments intracellulaires de la pulpe et de la pellicule. La teneur dans les pellicules est proportionnellement plus élevée durant les années chaudes (Blouin et Gimberteau, 2000). L'accumulation du potassium dans le fruit est lente avant la véraison et augmente fortement lorsque la phase de maturation commence (Ollat et Gaudillère, 1996; Blouin et Cruège, 2003). Le potassium, cation principal du moût, va avoir une forte influence sur le pH et peut représenter près de 50% des matières minérales totales (Blouin et Gimberteau, 2000). A la récolte, sa teneur dans les moûts est de l'ordre du gramme par litre (Blouin et Gimberteau, 2000). En Champagne, la teneur en potassium des moûts est de 1379 à 1918 mg/L (Tusseau *et al.*, 2017).

Le calcium s'accumule de façon importante jusqu'aux environs de la véraison. A partir de ce moment, sa teneur varie relativement peu (Blouin et Gimberteau, 2000). La diminution du calcium au cours de la maturation semble être nécessaire pour la solubilisation et la dépolymérisation de la pectine pariétale, dégradée alors par la polygalacturonase (Cabanne et Donèche, 2001). Le calcium migre de la pulpe vers la pellicule. A maturité, la majorité du calcium est localisée dans les pellicules et plus particulièrement dans les parois des cellules. Le calcium est présent à une concentration d'environ une centaine de milligrammes par litre de jus de raisin (Blouin et Gimberteau, 2000). En Champagne, la teneur en calcium des moûts est de 73 à 106 mg/L (Tusseau *et al.*, 2017).

Le magnésium migre vers la baie à partir des racines tout au long de la maturation. La pulpe s'enrichit plus rapidement que la pellicule. En conséquence, à maturité, la pulpe est toujours plus riche en magnésium que la pellicule. Il est présent à une concentration d'environ une centaine de milligrammes par litre de moût (Blouin et Gimberteau, 2000). En Champagne, la teneur en magnésium des moûts est de 65 à 82 mg/L (Tusseau *et al.*, 2017).

Les phosphates existent dans les moûts sous forme minérale (phosphate monopotassique) et sous forme organique (glycérophosphate, diéthylphosphate). Les teneurs varient de 100 à 400 mg/L exprimées en PO_4^{3-} (Blouin et Gimberteau, 2000).

La répartition des éléments minéraux entre la pellicule et la pulpe varie en fonction des cépages et des situations (Tableau 1 et Tableau 2).

Tableau 1. Quantité (mg/baie) des principaux éléments minéraux à maturité (D'après Schaller, 1999)

Principaux éléments minéraux	mg/baie (péricarpe à maturité)
Potassium	2,0 – 2,5
Calcium	0,4 – 0,5
Magnésium	0,14 – 0,16

Tableau 2. Concentration en potassium de la baie à maturité en mg/g de masse fraîche, moyenne sur différents cépages (D'après Mpelasoka *et al.*, 2008)

Compartiments de la baie	Potassium (mg/g masse fraîche)
Pellicule	4,76 – 8,82
Pulpe	1,29 – 2,88
Pépins	2,21 – 3,29

2. Elaboration du Champagne

2.1. Généralités

Le Champagne est le vin effervescent le plus connu au monde. Il est produit avec une technique de vinification qui a vu le jour en Champagne, sans cesse améliorée, et qui est depuis largement utilisée dans le monde entier sous le nom de méthode traditionnelle.

Le moine Dom Pérignon au 17^{ème} siècle fut le premier à mélanger des raisins blancs et rouges et à ajouter du sucre (<http://www.terroirs-france.com/vin/champagne-fabrication.htm>).

Il faut savoir que la dénomination méthode champenoise ne peut être utilisée que pour les vins originaires de la Champagne et qui y sont élaborés. Il s'agit du même type d'élaboration que la méthode traditionnelle avec une seconde fermentation en bouteille.

Le Champagne est une AOP (Appellation d'Origine Protégée), sur un territoire délimité. Il est élaboré à partir de trois cépages : le Chardonnay, le Pinot noir et le Pinot meunier, selon une technologie de vinification rigoureusement définie. Le Chardonnay est un cépage blanc que l'on trouve également dans la composition des grands vins blancs de Bourgogne. Le Pinot noir est le cépage rouge traditionnellement cultivé en Bourgogne. Le Pinot meunier est un cépage rouge

essentiellement utilisé dans la région champenoise. Ces trois cépages sont en parfaite adéquation avec le sol et le climat de la région champenoise. Traditionnellement, le Champagne est élaboré par l'assemblage de ces trois cépages.

2.2. Le pressurage des raisins en Champagne

2.2.1. Principes du pressurage

Le pressurage consiste à extraire le moût (liquide) de la grappe (solide). La Champagne est la seule région viticole où le pressurage des raisins est réglementé précisément ; le pressurage champenois est très particulier et répond à un cahier des charges très précis. Son objectif est d'obtenir le jus de la pulpe sans extraction des composants de la pellicule ou de la rafle apportant coloration et goût herbacé.

- Le pressurage est direct : aucune opération mécanique (foulage, éraflage) n'est autorisée entre la récolte obligatoirement manuelle et le pressurage.
- Le pressurage doit être réalisé dans des centres de pressurage agréés ou agréés qualitatifs, c'est-à-dire qui exerce une faible pression et une lente montée en pression.
- Le fractionnement des moûts (cuvée et taille) est réglementé : séparation de la cuvée (premiers moûts extraits, 80% du volume total environ), plus acides, plus sucrés et de la taille (derniers moûts extraits, 20% du volume total environ).
- Le taux limite d'extraction des moûts est réglementé : **160 kg** de raisins donne **102 litres** de moût débourbé (2% de bourbes) (Duteurtre, 2016).

L'objectif du pressurage est d'extraire le jus du raisin. Les grappes, très fragiles, doivent être manipulées avec beaucoup de délicatesse. Le principe de base est simple: il faut commencer par disposer dans l'aire de chargement du pressoir un "marc" de raisins soit 4000 kg de grappes entières (Duteurtre, 2016), puis les plateaux, bloqués par des étais ou des équerres métalliques, reçoivent une pression progressive et discontinue, qui les fait descendre sur les grappes. Le moût coule alors entre les claies du pressoir.

- Le tout premier moût (ou "auto-pressurage") résulte du pressurage naturel des raisins entre eux, lors du chargement. Il peut représenter 100 à 150 litres par marc. Il est souvent éliminé lorsqu'il entraîne avec lui des impuretés ou des moûts oxydés lors des manipulations du raisin depuis sa cueillette.

- Le premier moût (ou "cuvée") est obtenu par trois presses ou "serres" successives et discontinues. La première presse permet généralement de recueillir près de 10,25 hL dans le

"belon" (cuve de réception en ciment, acier émaillé ou inox). Pour obtenir les 20,50 hL autorisés (après débouillage), il faut procéder à la "retrouse", opération qui consiste à casser les bords du "gâteau" (ou masse des raisins moins écrasés), situé à la périphérie et qui a donc été soumis à une pression plus faible dans un pressoir à plateau horizontal.

Deux nouvelles presses permettent d'obtenir la quantité complémentaire de moûts (6,15 hL et 4,10 hL) qui constitue la cuvée. Le volume de cuvée doit pouvoir être obtenu avant d'effectuer la troisième retrouse (Duteurtre, 2016).

- Après ces trois presses, on effectue une troisième retrouse et l'on extrait alors la "taille » (5 hL). Ce cycle peut comprendre 2 ou 3 presses suivant les raisins. Le temps total du pressurage selon la méthode champenoise varie entre 2h30 et 3h30 : il dépend en particulier de la maturité des raisins et de la composition de la grappe (Duteurtre, 2016).

2.2.2. Les différents pressoirs

Tous les pressoirs agréés en Champagne ont des capacités de pressurage qui sont des multiples ou des sous-multiples de 4000 kg, soit : 2000, 4000, 8000 ou 12000 kg. Il existe également des pressoirs de 6000 kg (Duteurtre, 2016). Ces dernières années ont vu la mise en place de nouveaux pressoirs à maie tournante, poussée latérale ou fond incliné. Chacun de ces pressoirs se différencie par de nombreux paramètres.

Le pressoir vertical = pressoir traditionnel

Un plateau à poussée verticale écrase les raisins dans la cage ajourée de forme ronde ou carrée. Les jus s'écoulent de chaque côté et sont collectés dans une goulotte autour de la maie. Pour ce pressoir, la retrouse s'effectue manuellement en remaniant l'extérieur du gâteau qu'on replace sur le centre du pressoir.

Le pressoir horizontal pneumatique à membrane

La pression est exercée par une membrane en plastique alimentaire dans une cage horizontale munie de drains qui permettent de collecter des jus et d'assurer leur écoulement jusqu'à un collecteur. La retrouse s'effectue en dégonflant la membrane et en effectuant une à trois rotations de la cage.

Le pressoir horizontal à maie tournante

Le pressoir est équipé de 2 plateaux reliés à deux vérins hydrauliques. Lors du pressurage, ces plateaux avancent et pressent le marc, le jus est ensuite récupéré dans des drains internes. Pour la retrouse, on effectue un recul des 2 plateaux, lequel est suivi d'une rotation de 90° de la maie. Le déchargement est automatique grâce à l'ouverture de la maie.

Le pressoir horizontal à plateau incliné

Le chargement s'effectue par le dessus. Le pressurage s'effectue en avançant le plateau vertical vers le plateau incliné. Grâce à celui-ci, le centre de gravité du gâteau de marc est décalé par rapport à la base ; la retousse est donc automatique par un simple recul du plateau vertical qui va provoquer l'effondrement du gâteau de marc sur lui. Le déchargement est automatique par ouverture du pressoir par le dessous.

Le pressoir horizontal mécanique à plateau

L'extraction des jus est provoquée par le serrage des raisins entre deux plateaux verticaux montés sur une vis centrale. La cage horizontale est ajourée pour permettre l'écoulement des jus. La retousse s'effectue en desserrant les plateaux dans le sens inverse de la rotation de la cage. Ce type de pressoir n'est plus autorisé pour les nouveaux centres de pressurage parce qu'il ne rentre pas dans l'agrément qualitatif.

2.2.3. La conduite du pressurage

Pour obtenir un agrément qualitatif tous les pressoirs doivent être dotés de consoles automatiques (excepté le pressoir traditionnel). A ce jour, la grande majorité des pressoirs est équipée de consoles de commandes automatiques et programmables permettant une extraction douce et progressive des jus, à une faible pression et en limitant les retrousses.

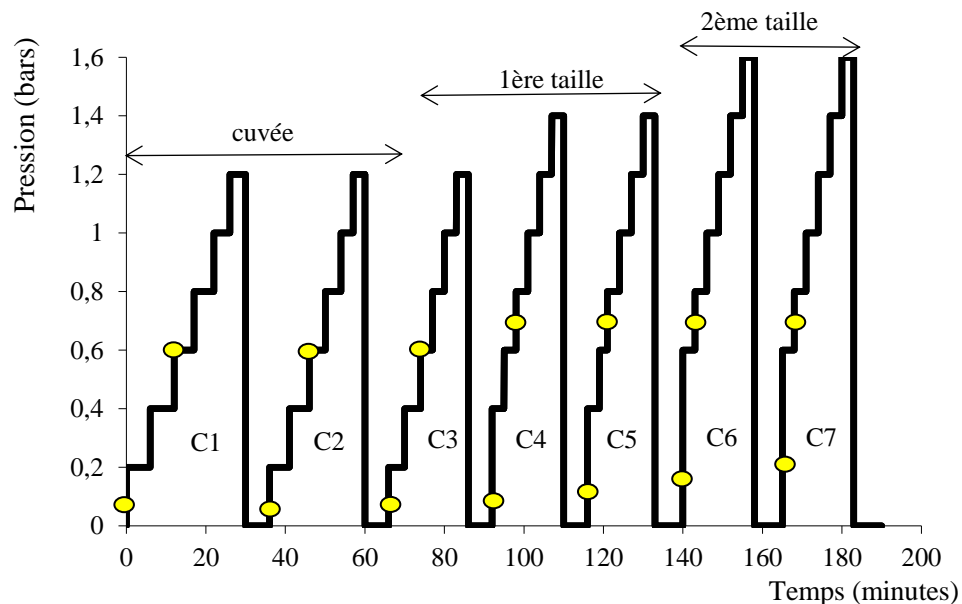


Figure 7. Evolution de la pression du pressurage champenois

En début de pressurage (Serre 1, S1), les pressions utilisées sont de l'ordre de 0,1 à 0,2 bar et elles n'excèdent pas 1 à 1,2 bar à l'issue des différents paliers de pression, avant retrousse. Pour la taille, la pression en fin de cycle peut atteindre de 1,4 à 1,6 bars (Duteurtre, 2016). A la serre 6 : la taille doit être obtenue. Le pressurage est réalisé de manière progressive. Entre chaque palier de pression, il y a quelques minutes d'attente pour permettre au moût de s'écouler. Lorsqu'on atteint la pression maximale on effectue une retrousse. Les rebêches sont séparées de la cuvée et des tailles et seront envoyées à la distillerie (hors AOC).

Les objectifs de la conduite du pressurage sont :

- ✓ Obtenir la cuvée en 3 serres maximum
- ✓ Limiter le nombre de retrousses
- ✓ Privilégier les basses pressions

2.2.4. Les caractéristiques des différentes fractions issues du pressurage

La qualité d'un vin résulte de sa teneur en sucres, en acides tartrique et malique, ainsi qu'en potassium. Ces composés sont présents dans la pulpe dont le gradient de sensibilité à l'éclatement se répartit en trois zones (Dunsford et Sneyd, 1989; Darias-Martin *et al.*, 2004) :

La zone intermédiaire riche en sucres et en acide tartrique,

La zone centrale riche en tanins et en acide malique,

La zone périphérique riche en potassium.

Le pressurage fractionné a pour objectif d'extraire les composés tels qu'ils sont présents dans la pulpe. La zone intermédiaire éclatant en premier, la cuvée a une constitution chimique différente de celle de la taille. Elle est plus riche en sucres et en acides, plus équilibrée et présente davantage de bouquet. Une cuvée ne peut être ni tâchée, ni oxydée. Si la taille est plus fruitée, moins acide et légèrement tâchée, c'est parce que le moût s'est chargé de matières minérales et colorantes.

La cuvée et la taille seront donc vinifiées séparément. Ce souci de la qualité, s'exerçant au détriment de la quantité, est présent à tous les niveaux qui conduisent au vin effervescent de Champagne : de la culture de la vigne à l'élaboration des cuvées.

Cuvée et taille pressées, le reste des moûts constituent les "rebêches" qui sont directement envoyées en distillerie et permettront la fourniture d'alcool à laquelle les producteurs de vins sont assujettis par la loi.

Enfin, les résidus du pressurage, les pellicules, rafles et pépins, appelés "aignes", sont distillés, après fermentation, pour obtenir le marc de Champagne.

2.3. La méthode champenoise ou traditionnelle

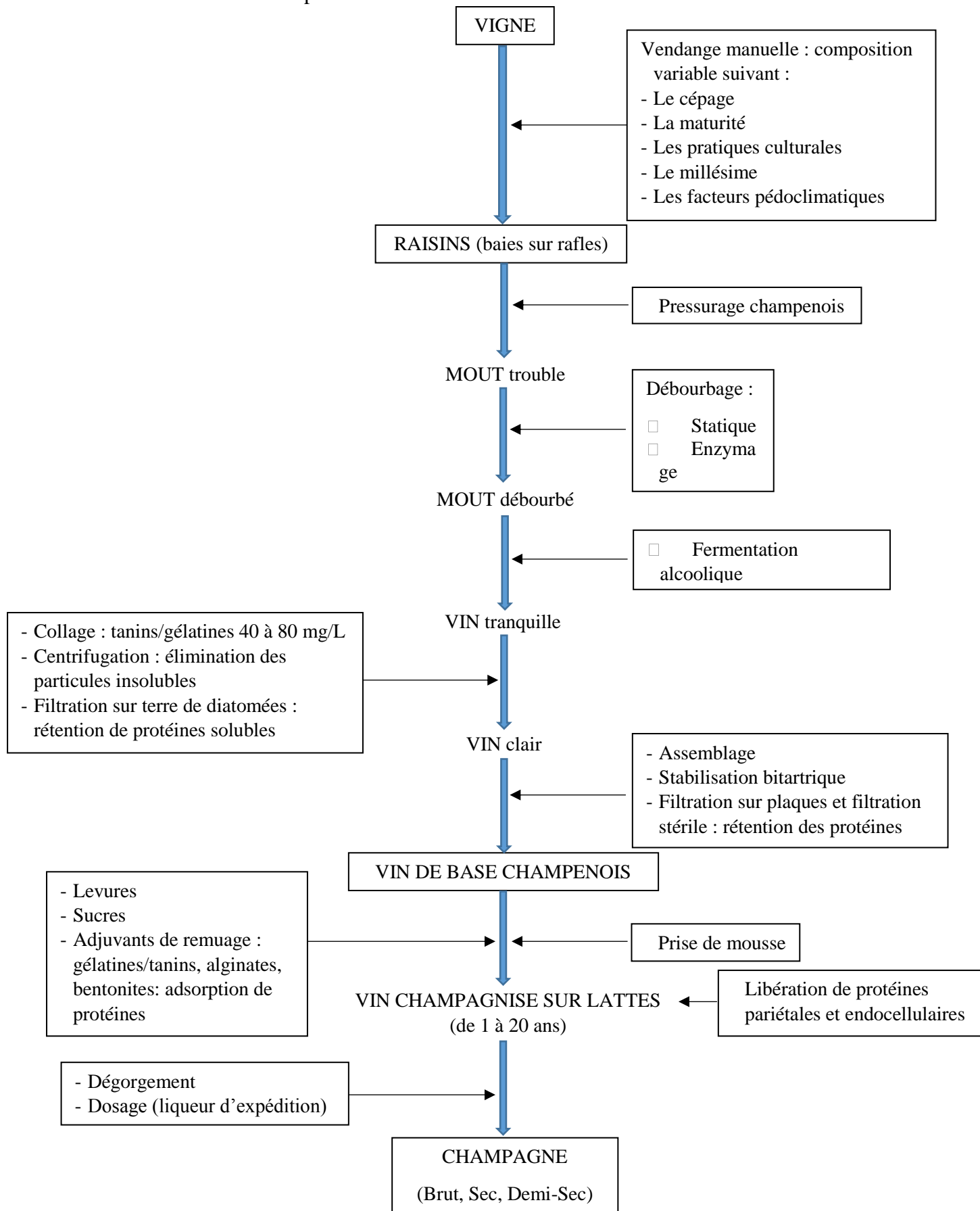


Figure 8. Principales étapes de la méthode champenoise ou traditionnelle

L'élaboration des vins de Champagne est une succession longue et délicate d'étapes bien définies et réglementées qui sont décrites succinctement dans la Figure 8 :

La vendange se déroule généralement en septembre en Champagne et la récolte se fait à la main car la machine ne donne pas les résultats qualitatifs nécessaires au cahier des charges AOP. Après récolte, les raisins sont transportés dans des caisses plastiques d'environ 45 kg et ajourées pour permettre l'écoulement du jus afin d'éviter toute macération ou extraction de matières tanniques et/ou colorantes de la pellicule dans le jus de raisin, puis déversés dans un pressoir situé à une distance proche du vignoble.

Le pressurage : il est très particulier et très précis afin d'éviter que le jus se colore au contact des peaux de raisin, de la pellicule ou de la rafle. A l'issue du pressurage, les moûts obtenus sont clarifiés et protégés par une addition d'anhydride sulfureux (SO₂). Le SO₂ a un double effet : antiseptique en limitant le développement de la flore indigène et antioxydant en protégeant les moûts et par la suite les vins, contre l'oxydation (Duteurtre, 2016). Cette dose varie généralement entre 3 et 8 g de SO₂/hL pour les moûts de cuvée, jusqu'à un maximum de 5 à 9 g de SO₂/hL pour les tailles. Si l'élaborateur ne souhaite pas effectuer la fermentation malolactique, elle est portée le plus souvent de 7 à 10 g de SO₂/hL de cuvée (Duteurtre, 2016).

La fermentation alcoolique : Après le débouillage, le jus de raisin est acheminé à la cuverie où il va fermenter. La fermentation se fait à basse température. Les levures sélectionnées, appartenant à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* transforment les sucres contenus dans le moût en éthanol et en gaz carbonique.

Comme la législation du Champagne impose une teneur maximale finale en éthanol de **13% vol** et que la prise de mousse va apporter un complément de 1,3 à 1,4% vol, la chaptalisation sera réalisée de manière à obtenir **11% vol** en fin de fermentation alcoolique, en tout cas moins de 11,5% vol, ce qui permettra **de ne pas dépasser 13 % vol après la prise de mousse** (Duteurtre, 2016). La fermentation alcoolique est suivie d'un soutirage dans le but d'éliminer les lies constituées de levures mortes. Les vins obtenus sont dits **vins de base tranquilles** (non effervescents).

La fermentation malolactique : C'est un processus biologique qui consiste en une transformation par voie bactérienne (espèce *Oenococcus oeni*) de l'acide malique des vins en acide lactique, avec un dégagement de gaz carbonique, permettant ainsi de réduire l'acidité, d'obtenir des vins plus souples par une remontée du pH, un affinement des arômes et qui assure une plus grande stabilité microbienne dans le temps.

L'activité de la fermentation malolactique est moins intense, moins visible, mais plus longue que celle de la fermentation alcoolique puisqu'elle demande quatre à six semaines.

L'assemblage des cuvées : les cuvées sont élaborées après soutirage, collage et assemblage éventuel entre vins de même origine, vins vieux ou vins de l'année. La qualité de la cuvée détermine déjà celle du Champagne. C'est une étape très importante dans l'élaboration d'un vin de Champagne. En effet, c'est elle qui va déterminer en grande partie le caractère des vins, notamment en fonction de l'esprit de la Maison qui l'élabore. Le chef de cave assemble des vins différents de manière à obtenir une cuvée présentant des caractéristiques précises.

Plusieurs types d'assemblages sont possibles :

- L'assemblage horizontal qui utilise des vins du même millésime, mais de crus ou de cépages différents ;
- L'assemblage vertical est réalisé à partir de vins de l'année, associés à des vins de réserve ;
- Un mix de ces deux assemblages.

La prise de mousse (ou tirage) : lorsque la cuvée est achevée, le vin est filtré et clarifié. Commence alors ce qui va devenir la fameuse « seconde fermentation ». On ajoute avant la mise en bouteille, la liqueur de tirage contenant du sucre (soit un kilo de sucre de canne ou de betterave par litre de vin vieux) et des levures qui déclencheront cette seconde fermentation. Dans la pratique, les Champagnes ont une pression de l'ordre de 5 à 6 atmosphères aux températures des caves : 12°C à 15°C. Il n'y a pas de limite maximum à cette pression mais d'après la réglementation, celle-ci doit être au minimum de 3,5 atmosphères à 20°C. Comme pour la fermentation alcoolique, 4 g de sucre libère une quantité de CO₂ correspondant à une pression de 1 bar. Dans un système fermé, il faut ajouter de 22 à 24 g par bouteille (sous forme d'une liqueur à 613,5 g/L) pour obtenir la pression requise (Duteurtre, 2016).

Sous l'action des levures, le sucre apporté par la liqueur de tirage se transforme en alcool et surtout en gaz carbonique. Cette phase doit s'opérer lentement. Les levures qui ont assuré la transformation du sucre en alcool sont mortes et donnent un dépôt sur les parois des bouteilles, dépôt qu'il faut éliminer.

La conservation sur lattes : les bouteilles sont disposées couchées sur des hauteurs de 5 bouteilles séparées par une latte de bois. La durée du vieillissement est de 15 mois minimum entre le tirage et la commercialisation (comme l'exige la législation) pour les cuvées courantes et de 36 mois minimum pour les millésimes.

L'élimination du dépôt (en deux temps) :

Le remuage : les bouteilles sont placées sur des pupitres, le goulot incliné vers le bas. La manipulation consiste à tourner les bouteilles de 1/8ème de tour dans un sens puis dans l'autre tout en les inclinant de plus en plus vers la verticale afin que les lies se concentrent dans le goulot. Le remuage dure de deux semaines à 3 mois selon les cas. Son rôle est essentiellement mécanique : concentration du dépôt de levures dans le col des bouteilles, cette action étant facilitée par l'utilisation d'adjuvant de remuage (Duteurtre, 2016). Aujourd'hui, le remuage est mécanique et s'effectue sur des gyro-palettes qui tournent 504 bouteilles simultanément.

Le dégorgement : cette manipulation vise à expulser le dépôt constitué par les levures mortes. Le dégorgement à la volée se fait à la main avec une clé à décapsuler, mais n'est plus beaucoup utilisé aujourd'hui. La méthode de dégorgement actuelle, inventée par Raymond Abelé un négociant champenois, est la suivante : le col de la bouteille est plongé dans un bain réfrigérant à une température proche de -25°C. Le glaçon qui se forme emprisonne le dépôt et le tout est éjecté lors de l'ouverture de la bouteille. Aujourd'hui, ce dégorgement est presque entièrement automatisé sur des lignes de dégorgement pouvant atteindre des cadences de 15000 bouteilles par heure (Duteurtre, 2016).

Le dosage : pour rééquilibrer l'acidité naturelle des vins, les bouteilles sont ensuite dosées par ajout d'une liqueur d'expédition composée de vins de réserve et de sucre. La quantité de sucre ainsi introduite détermine le type de Champagne. Selon le pourcentage de sucre contenu dans la liqueur d'expédition, on obtiendra des vins effervescents différents, plus ou moins dosés, c'est-à-dire plus ou moins sucrés, définis par l'Union Européenne :

- « Brut nature » ou « pas dosé » ou « dosage zéro » : si la teneur en sucres est inférieure à 3 g/L ;
- « Extra-brut » : si la teneur en sucres est comprise entre 0 et 6 g/L ;
- « Brut » : si la teneur en sucres est inférieure à 12 g/L ;
- « Extra dry » : si la teneur en sucres se situe entre 12 et 17 g/L ;
- « Sec » : si la teneur en sucres se situe entre 17 et 32 g/L ;
- « Demi-sec » : si la teneur en sucres se situe entre 32 et 50 g/L ;
- « Doux » : si la teneur en sucres est supérieure à 50 g/L (Duteurtre, 2016).

Différences entre la méthode champenoise et la méthode traditionnelle :

La première vient de la législation : avant 1990, selon la loi, le Champagne et le Crémant étaient fabriqués selon la méthode champenoise. En 1990, la législation a clarifié les termes et désormais seuls des vins issus et produits dans l'aire d'appellation Champagne ont la possibilité de parler de " méthode Champenoise ". Pour les autres régions le qualificatif " méthode

traditionnelle " est utilisé. En contrepartie, le mot Crémant n'est plus utilisé pour des vins issus de la Champagne. Il y a 7 appellations Crémant en France : le Crémant de Loire, le Crémant de Bourgogne, le Crémant de Bordeaux, le Crémant d'Alsace, le Crémant du Jura, le Crémant de Limoux, le Crémant de Die. Il y a aussi le Crémant du Luxembourg.

□ Sur le plan technique, la différence porte sur le temps de vieillissement sur lies et le rendement d'extraction au pressurage (150 kg de raisins pour 100 litres pour les Crémants). Pour les Crémants, il faut laisser s'écouler au minimum douze mois entre le tirage et l'expédition, dont neuf mois se font obligatoirement sur lies pour la méthode traditionnelle, tandis qu'un minimum de quinze mois entre le tirage et l'expédition est nécessaire pour la méthode champenoise dont douze se font obligatoirement sur lies (d'après l'Institut National de l'Origine et de la Qualité, 2011).

2.4. Composition et paramètres œnologiques des vins de Champagne

2.4.1. Composition chimique globale et paramètres œnologiques

Le Champagne est composé principalement d'eau, de dioxyde de carbone, de petites molécules organiques comme l'éthanol, les sucres, les acides, les acides aminés, les arômes et les macromolécules comme les PS et les protéines.

Il faut en moyenne 1,15 kg de raisins pour faire une bouteille de Champagne, mais jusqu'à près de 1,5 kg s'il s'agit d'un vin dans lequel entre exclusivement de la cuvée. Au stade du pressurage, on trouve dans le moût de 70 à 80 % d'eau, de 17 à 20 % de sucres et de 5 à 10 % de substances diverses (Maumene, 1873; Duteurtre, 2016).

Le Champagne, comme tous les vins, est une solution hydro-alcoolique, mais avec des constituants qui lui sont propres, soit en nature, soit en quantité. Dans un litre de Champagne terminé, on trouve environ, pour l'essentiel : 93 g d'alcools ; 1 à 36 g de sucres (glucose et fructose) ; 4 à 10 g d'acidité totale (exprimée en grammes d'acide sulfurique) ; 5 à 8 litres de gaz carbonique dissous ; 16 à 22 g d'extrait sec (Périgord, 1825; Duteurtre, 2016), dont 2 g d'origine minérale (environ 200 à 600 mg de potassium, 20 à 60 mg de calcium, 10 mg de magnésium, 4 mg de fer et de très petites quantités de cuivre, de zinc et de manganèse), de l'ordre d'une centaine de mg/L de pectines (sauf pour les vins rosés); de 200 à 700 mg de matières azotées, dont de nombreux acides aminés; une dizaine de vitamines, pour la plupart du groupe B, dont par ordre d'importance la nicotinamide, l'acide pantothénique, la pyridoxine et la riboflavine; une douzaine d'esters qui participent à l'arôme secondaire (Paster, 1873; Duteurtre, 2016), ainsi que 40 à 60 mg d'anhydride sulfureux.

La densité du Champagne (rapport de la masse d'un certain volume à 20°C à la masse du même volume d'eau à la même température) oscille entre 990 et 1005 g/L, selon son titre alcoométrique et son dosage en sucres (Maumene, 1873; Duteurtre, 2016).

Les protéines, même si elles jouent un rôle primordial dans les vins en participant notamment à la casse protéique, ne sont présentes qu'en faibles quantités. Ces protéines dans le Champagne proviennent du raisin et des micro-organismes (champignons, levures ou bactéries associés à la culture des baies ou à la fermentation du moût). Le vin contient des quantités variables de composés azotés, composés parmi lesquels les protéines semblent représenter qualitativement le groupe le plus important pour leur implication dans les propriétés moussantes des vins effervescents (Brissonnet et Maujean, 1993).

La concentration et la composition des PS dépendent de la variété de raisin et de la maturité, ainsi que des pratiques œnologiques (Coimbra *et al.*, 2002; Boulet *et al.*, 2007). Ces composés peuvent être classés en deux groupes :

- Les PS de raisin (polysaccharides pectiques), qui comprennent les rhamnogalacturonane II (RG-II) et les PS riches en arabinose et galactose (PRAGs) tels que les arabinogalactanes (AG), les arabinogalactanes-protéines (AGPs) et les arabinanes.
- Les PS de levure, en particulier les MPs et les glucanes.

2.4.2. Les protéines

2.4.2.1. Les protéines de raisin

Les protéines du raisin sont des molécules de masse moléculaire supérieure à 10 kDa, qui possèdent en solution un caractère colloïdal (Tusseau et Laer, 1993). Il s'agit principalement des protéines issues de la pulpe (Tattersall *et al.*, 1997; Ferreira *et al.*, 2000; Giribaldi *et al.*, 2010; Pasquier *et al.*, 2013).

Le profil en électrophorèse bidimensionnelle des protéines de baies mûres met en évidence entre 270 et 1050 spots protéiques (Sarry *et al.*, 2004; Giribaldi *et al.*, 2007; Grimplet *et al.*, 2009; Pasquier *et al.*, 2013). Une augmentation de leur concentration a été observée au cours de la maturation des raisins, en corrélation avec l'augmentation du pH et de l'accumulation des sucres (Murphey *et al.*, 1989; Derckel *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 1997; Giribaldi *et al.*, 2007; Delsart, 2016). Ces protéines ont des fonctions spécifiques : 34% sont impliquées dans le métabolisme énergétique, 19% dans des réactions de défense et de stress et 13% dans le métabolisme primaire. Les protéines qui jouent un rôle dans la réponse au stress et la défense contre les infections pathogènes (PR-protéines) sont des protéines telles que les thaumatines, les chitinases et les β -glucanases. Leur production est accélérée dans la plante à l'endroit où se produisent des blessures ou suite à l'exposition d'agents pathogènes (Holz *et al.*, 2007).

Les protéines de 9 à 65 kDa (Hsu *et al.*, 1987 ; Brissonnet *et al.*, 1993 ; Giribaldi *et al.*, 2010; Pasquier *et al.*, 2013) font partie des principales macromolécules des jus de raisin et des vins. Les protéines de défense (PR-protéines) (Robinson et Davies, 2000; Giribaldi *et al.*, 2010; Pasquier *et al.*, 2013) et l'invertase vacuolaire de raisin (Jégou *et al.*, 2009 ; Giribaldi *et al.*, 2010; Pasquier *et al.*, 2013) sont les protéines majoritairement présentes dans le jus de raisin. Bien qu'elles soient présentes à de faibles concentrations dans le jus de raisin, quelques dizaines à quelques centaines de mg/L (Pocock *et al.*, 1998 ; Pasquier *et al.*, 2013), elles jouent un rôle majeur dans les propriétés moussantes du vin de Champagne (Brissonnet et Maujean, 1993 ; Moreno-Arribas *et al.*, 2000 ; Richard *et al.*, 2001, 2006 ; Cilindre *et al.*, 2007 ; Esteruelas *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2015; Culbert *et al.*, 2017)

La composition protéique d'un vin dépend d'un grand nombre de facteurs : cépage, origine géographique, millésime, pratiques culturales, maturité des baies et procédés de vinification (Fukui *et al.*, 2003 ; Giribaldi *et al.*, 2010; Pasquier *et al.*, 2013). Les protéines du vin proviennent essentiellement des baies de raisin et mais aussi de micro-organismes (Marchal *et al.*, 1996 ; Dambrouck *et al.*, 2003). Les organismes pathogènes qui contaminent les baies de raisin, comme le champignon *Botrytis cinerea*, peuvent également modifier la composition protéique finale d'un vin (4,85÷5,52 mg/L) (Cilindre *et al.*, 2007, 2008).

L'induction de protéines PR sous l'action d'un stress biotique suggère, mais ne prouve pas, leur implication dans les mécanismes de défense de la plante (Tattersall *et al.*, 1997; Ferreira *et al.*, 2000; Giribaldi *et al.*, 2010; Pasquier *et al.*, 2013). Indépendamment de cette induction, certaines protéines-PR sont exprimées de manière constitutive dans les baies de raisin, simplement régulées par le développement de la vigne (Monteiro *et al.*, 2007; Giribaldi *et al.*, 2010). Dix-sept familles de protéines-PR ont jusqu'à présent été référencées, de PR1 à PR17, dans l'ordre de leur découverte (Christensen, 2002; van Loon *et al.*, 2006). Quatre de ces familles ont été jusqu'à présent identifiées dans un vin : PR2 (β -1,3-glucanase), PR3 (chitinase type I, II, IV, V, VI, VII), PR5 (thaumatin-like) et PR14 (lipid-transfer protein) (Christensen, 2002; van Loon *et al.*, 2006; Giribaldi *et al.*, 2010).

2.4.2.2. Les protéines levuriennes

Les protéines proviennent de la paroi des cellules de levures (mannoprotéines (MPs)). On distingue celles sécrétées par les levures lors de la fermentation alcoolique de celles libérées lors de l'autolyse levurienne durant l'élevage sur lies.

Elles représentent la deuxième famille de PS la plus abondante dans le vin, après les AGPs (Vidal *et al.*, 2003), et ont des masses moléculaires comprises entre 50 et 530 kDa (Vidal *et al.*,

2003). Dans le vin blanc, leurs concentrations sont comprises entre 50 et 250 mg/L. Leur quantité et leur nature dépendent du type de levure utilisée, mais aussi des pratiques de vinification (Doco *et al.*, 2010).

La fraction glucidique des MPs est composée de mannoses (essentiellement avec des liaisons α -1,2, α -1,3 et α -1,6), de mannosylphosphates (de 0,1 à 1%) et de *N*-acétyl-glucosamines. Ces proportions dépendent de la souche et de la phase de croissance de la levure du genre *Saccharomyces* (Ballou, 1976, 1990; Jigami et Odani, 1999; Klis *et al.*, 2002). Alors que les *N*-glycanes sont polymériques et fortement ramifiés, les *O*-glycanes sont plutôt linéaires et oligosidiques. La liaison au peptide peut se faire sur une thréonine (*O*-glycosylation), une sérine ou sur une asparagine (liaison amide, *N*-glycosylation) (Ballou, 1976).

Les MPs de paroi cellulaire de levure jouent un rôle très important dans la vinification et la plupart de leurs fonctions technologiques ont été largement décrites: l'inhibition de la cristallisation du tartrate (Lubbers *et al.*, 1993; Gerbaud *et al.*, 1996; Gerbaud *et al.*, 1997; Moine-Ledoux, 2002), la réduction de la précipitation des protéines (Waters *et al.*, 1994; Moine-Ledoux et Dubourdiou, 1999; Dupin *et al.*, 2000), la stimulation de la fermentation malolactique (Guilloux-Bénatier *et al.*, 1995; Rosi *et al.*, 2000; Guilloux-Bénatier et Chassagne, 2003) et l'adsorption de substances toxiques (Baptista *et al.*, 2004; Bejaoul *et al.*, 2004; Ringot *et al.*, 2005; Caridi *et al.*, 2006).

Des études récentes ont par ailleurs montré que les MPs interviennent dans la stabilisation tartrique (Gerbaud *et al.*, 1996), l'amélioration des propriétés moussantes (Abdallah *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2011) et empêchent la formation de trouble dans les vins blancs (Waters *et al.*, 1994).

Dans les vins blancs, les protéines sont présentes à des concentrations comprises entre 15 et 330 mg/L (Bayly et Berg, 1967; Hsu et Heatherbell, 1987; Pocock *et al.*, 2000; Mesquita *et al.*, 2001; Vincenzi *et al.*, 2005; Waters et Colby, 2009). La concentration protéique des vins de Champagne se situe entre 10 et 30 mg/L, alors que celle des moûts est comprise entre 25 à 95 mg/L (Vauzour, 2010). Toutefois, les teneurs observées dépendent largement des méthodes de dosage utilisées. Ainsi, selon les auteurs, 100 mg/L de MPs ne correspondent qu'à 5 mg/L de la partie polyaminoacide. De ce fait, comparer des études entre elles perd de son sens puisque les écarts observés dépendent plus de la méthode de dosage que du cépage ou des pratiques œnologiques, par exemple.

2.4.3. Les PS

2.4.3.1. Les PS de raisin

La présence d'enzymes pectinolytiques endogènes du raisin (Guadalupe et Ayestarán, 2007) tels que des pectines méthylestérases, des polygalacturonases seraient extraites en début de pressurage des raisins, ainsi que par la présence de *Botrytis cinerea* qui peut sécréter des pectinases capables de modifier la structure des parois cellulaires des baies (Francioli *et al.*, 1999 ; Gérard, 2014). L'action de ces enzymes pourrait permettre une meilleure extraction des PS dans les moûts.

Les PS issus du raisin résultent de la dégradation et de la solubilisation d'une partie des substances pectiques contenues dans la paroi des cellules de pellicule et de pulpe, dont la chaîne principale est constituée d'acide α -D-galactopyranosyluronic ou acide galacturonique. Les trois classes de pectines les plus connues sont les homogalacturonanes (HM) et les rhamnogalacturonanes de type I et II (RG-I et RG-II).

Les pectines de la paroi cellulaire des baies de raisin sont caractérisées par des régions "lisses", formées par des homogalacturonanes (HG) et les régions "hérissées" (RG-I) portant des chaînes latérales contenant des PS neutres (Doco *et al.*, 1995; Vincken *et al.*, 2003). L'homogalacturonane (HG), qui est un polymère d'acides α -D-galacturoniques liés en α -(1 \rightarrow 4), est hydrolysé par les enzymes de raisin ou des enzymes exogènes au cours de la maturation, la macération et après le pressurage. L'arabinogalactane de type II (AG-II), l'arabinane et le rhamnogalacturonane de type II (RG-II) sont libérés dans le moût alors que l'arabinogalactane de type I (AG-I) reste associé aux parties solides. Une autre famille, les arabinogalactane-protéines (AGPs), sont libres dans la paroi cellulaire et sont solubilisés dans les moûts. L'arabinane, l'arabinogalactane et les arabinogalactanes protéines, nommés PRAGs, sont des PS riches en arabinose et galactose impliqués dans la stabilisation de la mousse des vins effervescents (Soufleros et Bertrand, 1998).

La concentration en PS cellulaires reste constante pendant la maturation (4,2 mg/baies) (Vicens *et al.*, 2009). Les PS solubles dans le vin sont essentiellement composés de PS de la paroi cellulaire : arabinogalactanes, arabinogalactanes-protéines (38-41%) et rhamnogalacturonane-II (38-46%) (Ayestarán *et al.*, 2004).

Les enzymes proviennent des raisins (pectinases) ou d'*Aspergillus niger* (enzymes industrielles exogènes) dégradent profondément les substances pectiques acides du moût au vin. Par conséquent, des zone homogalacturonanes représentent dans les substances pectiques acides du moût mais ceux sont absentes des substances pectiques du vin qui correspondent aux « zones hérissées » des substances pectiques acides et aux rhamnogalacturonanes de type II du moût (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012).

La concentration en RG-II est de 50 à 150 mg/L dans les vins blancs et de 100 à 400 mg/L dans les vins de base (Culbert *et al.*, 2017; Esteruelas *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2017; Medina-Trujillo *et al.*, 2017; Jégou *et al.*, 2017). Sa concentration dans les vins effervescents varie entre 14 et 34 mg/L (Culbert *et al.*, 2017; Esteruelas *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2017; Medina-Trujillo *et al.*, 2017). Les AGPs et AGs sont présents à des concentrations de 100 à 350 mg/L dans les vins rouges (Pellerin *et al.*, 1995; Doco *et al.*, 2003; Vidal *et al.*, 2003). Les AGPs, isolés à partir d'un vin de Champagne, contiennent : de l'arabinose (12,8%), du galactose (68,5%), de l'acide glucuronique (5,9%), du mannose (7,0%), du glucose (1,0%), du xylose (0,4%) et du rhamnose (0,7%). La partie protéique des AGPs est formée des acides aminés suivants : hydroxyproline (22%), sérine (17,6%), alanine (10,8%), acide glutamique (10,3%) et thréonine (8,6%) (Doco et Williams, 2013). Les AGPs sont localisés sous forme soluble dans les parois cellulaires (Saulnier et Brillouet, 1989). Ainsi, ils sont facilement extraits lors du pressurage des baies de raisin et la vinification (Doco *et al.*, 1996; Vidal *et al.*, 2000; Doco *et al.*, 2007; Ducasse *et al.*, 2010).

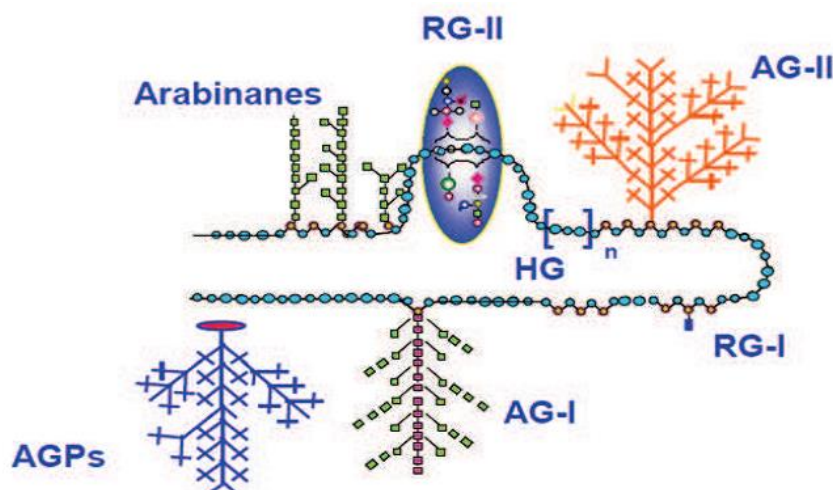


Figure 9. Représentation schématique de la pectine de la baie de raisin (Doco *et al.*, 1995)

Des études antérieures ont mis en évidence la présence d'AGPs avec un rapport molaire de l'arabinose au galactose proche de 0,2 unité dans différents vins mousseux (Esteruelas *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2016). Une quantité importante d'arabinose et de galactose parmi les oses totaux indique la présence d'une quantité élevée d'AGPs dans la fraction polysaccharidique des vins effervescents (Culbert *et al.*, 2017; Esteruelas *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2017; Medina-Trujillo *et al.*, 2017).

Par ailleurs, des études récentes ont montré que la concentration en OS est de 100 mg/L dans les vins de Grignolino et de Chardonnay (Bordiga *et al.*, 2012) jusqu'à 300 mg/L dans les vins de Carignan et de Merlot (Ducasse *et al.*, 2010). Elle varie de 33 à 111 mg/L dans des vins de base de Macabeo, de Xarel.lo et de Chardonnay et de 36 à 115 mg/L dans des vins effervescents de Macabeo, de Xarel.lo et de Chardonnay (Esteruelas *et al.*, 2015). Les OS sont impliqués dans la physiologie des plantes et, en particulier, dans les réactions de défense des plantes. Il a été montré que certains OS possèdent des propriétés physico-chimiques telles que la chélation des cations qui peuvent être intéressantes pour la qualité des vins.

2.4.3.2. Les PS levuriens

Les PS des levures comprennent des MPs et des glucanes (GL). Ils sont présents dans la paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* (Vidal *et al.*, 2003; Klis *et al.*, 2006).

Les MPs sont des constituants de la paroi des cellules de levure. Deux classes de MPs ont été décrites dans les vins : le premier groupe est libéré par l'action d'une β -1,3 glucanase au cours du vieillissement des vins sur lies (autolyse) et le second groupe est libéré par la levure lors de la croissance active pendant la fermentation alcoolique du moût de raisin (Doco *et al.*, 2003). Les MPs sont abondantes dans des vins rouges de Carignan et de Tempranillo, vins de base de Pinot meunier et de Chardonnay, d'environ 65 à 91 mg/L (Vidal *et al.*, 2003; Guadalupe et Ayestarán, 2007; Martínez-Lapuente, 2017; Jégou *et al.*, 2017) ; elles ont des masses moléculaires de 5 à plus de 800 kDa (Saulnier *et al.*, 1991; Rosi *et al.*, 2000). Les MPs sont des homopolymères de mannoses contenant 10,3% de protéines alors que MPs avec une masse moléculaire faible se composent de 87,5% de mannose, d'autres résidus et 2,5% seulement de protéines (Gonçalves *et al.*, 2002). Les MPs qui peuvent représenter jusqu'à 50% de la masse sèche de la paroi cellulaire de *S. cerevisiae* (Aguilar-Uscanga et Francois, 2003), sont situées dans la couche la plus externe de la paroi de la cellule, où elles sont liées à une chaîne β -1,3 glucane (Klis *et al.*, 2006).

Les glucanes sont des PS composés de monomères de D-glucoses reliés majoritairement par des liaisons β -1,3 glycosidiques mais également β -1,6 glycosidiques. Ces composés ont une masse moléculaire comprise entre 25 et 270 kDa (Klis *et al.*, 2006). Le β -1,3 glucane peut représenter de 30 à 50% de la masse sèche de la paroi cellulaire de *S. cerevisiae*, tandis que le β -1,6 glucane représente seulement de 5 à 10% de celle-ci (Klis *et al.*, 2006).

3. *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea est l'agent responsable de la pourriture grise (Figure 10A) (E lad *et al.*, 2007), mais est capable dans certaines conditions climatiques et d'alimentation en eau de la vigne de se développer sous une forme particulière nommée « pourriture noble » (Figure 10B) (Fournier *et al.*, 2013). La pourriture noble est à l'origine des grands vins blancs liquoreux français, en particulier ceux du Sud-Ouest (Montbazillac, Sauternes) issus des cépages Sémillon et Sauvignon, ou des sélections de grains nobles de Chenin de Loire ou encore de Gewurztraminer, de Pinot gris et de Riesling d'Alsace (<http://ephytia.inra.fr/fr/C/7068/Vigne-Focus-Pourriture-noble>). Ce champignon, sous la forme de pourriture grise, est considéré comme un problème phytosanitaire majeur dans la viticulture mondiale (Martinez *et al.*, 2005). *Botrytis cinerea* est un champignon ubiquiste et polyphagique qui peut coloniser plus de 200 hôtes (Blouin et Gimberteau, 2000; Van Kan, 2006; Williamson *et al.*, 2007) et capable d'attaquer plus de 230 espèces de plantes (Jarvis *et al.*, 1980). Il peut s'attaquer à différents stades de développement de la vigne. En effet, l'infection par les conidies peut se produire durant toute la période de croissance: début d'inflorescence, floraison, véraison, stade végétatif et grappe (Kretschmer *et al.*, 2007). Ce genre fongique présente un statut particulier parmi les champignons parasites; il peut ainsi se développer d'abord sur des tissus morts avant de devenir parasite (Dubos, 2002).

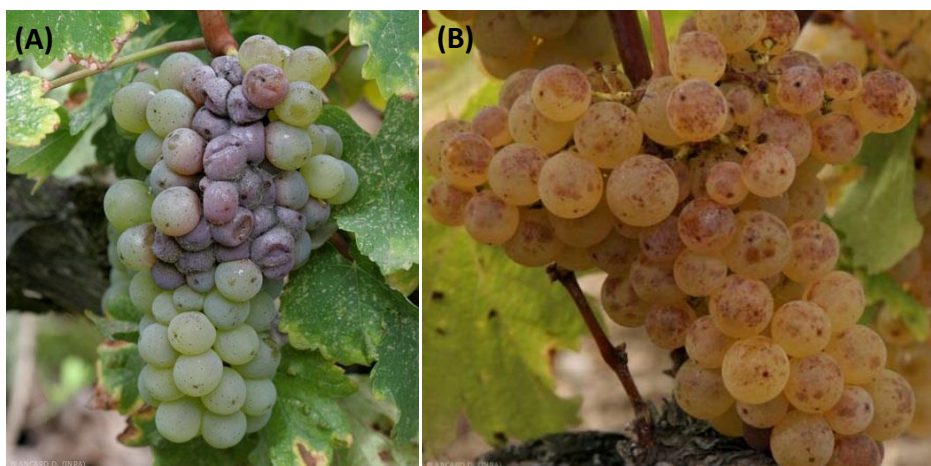


Figure 10. La pourriture grise (A) et la pourriture noble (B)

(Photo Dominique Blancard (INRA))

(<http://ephytia.inra.fr/fr/C/7068/Vigne-Focus-Pourriture-noble>)

(A) Début d'attaque de pourriture grise de grappe. Les baies pourries prennent une teinte brune sur les cépages blancs et rougeâtre sur les cépages noirs. (B) Début d'attaque de pourriture noble sur cépage Sémillon. Faciès tigré (grappe entière).

On estime les pertes mondiales dues à *Botrytis cinerea* sur vigne à 2 milliards de dollars par an (Elmer et Michailides, 2007). Le développement rapide et insidieux de *Botrytis cinerea* engendre, en effet, chaque année la destruction de récoltes sur des centaines d'hectares de cultures viticoles (Bolay et Pezet, 1987; Leroux *et al.*, 2002; Elmer et Michailides, 2007). Les pertes estimées pour la vigne en France correspondent à 15-40% des récoltes selon les conditions climatiques (Ajouz, 2009). En Champagne, les taux d'infection peuvent atteindre 15 à 25% selon les années (Bocquet *et al.*, 1995, 1996). Par ailleurs, la pourriture grise peut provoquer une altération de composition et des qualités organoleptiques du vin telles que la couleur, la saveur, les arômes et la moussabilité pour les vins de Champagne (Bocquet *et al.*, 1995, 1996; Marchal *et al.*, 2001; Marchal *et al.*, 2006; Cilindre *et al.*, 2007).

3.1. Modalités d'infection de la baie de raisin

Botrytis cinerea est capable d'infecter l'ensemble des organes aériens de nombreuses plantes hôtes (Hammond-Kosack et Jone, 2000; E lad *et al.*, 2007; Holz *et al.*, 2007). Il existe différents modes d'infection de *Botrytis cinerea* qui se font par les tubes de germination des conidies :

- passage de la barrière cuticulaire grâce à une action enzymatique. Le tube atteint ainsi l'épiderme où la pectine sera ensuite dégradée par une polygalacturonase sécrétée par *Botrytis cinerea* (Figure 11A) (**pénétration mécanique**) ;

- passage par les stomates (Figure 11B) : ouverture microscopique dans l'épiderme d'une feuille, éventuellement d'une tige, assurant les échanges gazeux entre la plante et l'atmosphère ;

- passage par des **ouvertures naturelles ou des blessures** qui peuvent être provoquées par des insectes. L'infection par du mycélium provenant de tissus morts de parties végétales infectées est aussi fréquente (Jarvis, 1977; Jarvis *et al.*, 1980).

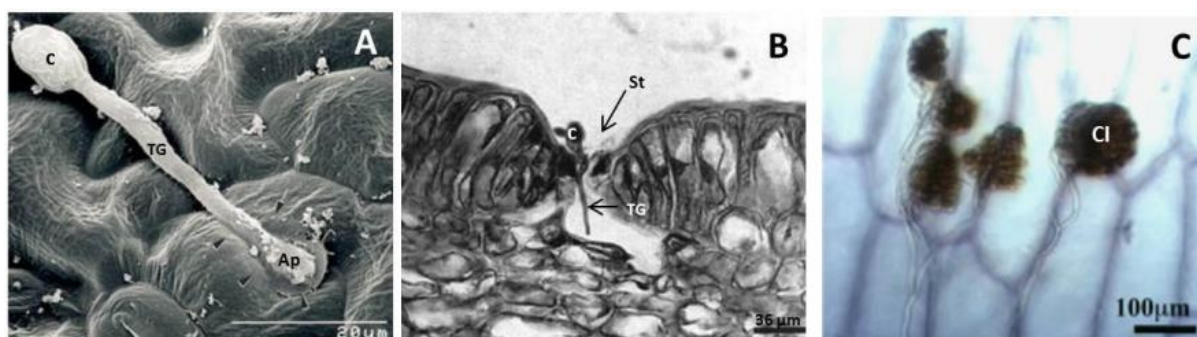


Figure 11. Modes d'infection par *Botrytis cinerea*
(Fourie et Holz, 1995; Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007)

A : Germination et développement de *Botrytis cinerea* (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Champignon>) pour pénétrer dans une cellule de la baie de raisin (appressorium) (photo réalisée au microscope électronique à balayage, modifiée d'après Van Kan (2006)) ; **B** : Pénétration de *Botrytis cinerea* dans les tissus de l'hôte par un stomate (photo réalisée au microscope optique, modifiée d'après Fourie et Holz (1995)) ; **C** : Coussins d'infection (photo réalisée au microscope optique, modifiée d'après Choque *et al.* (2007)). Ap : Appressorium ; c : Conidie ; CI : Coussin d'Infection ; St : Stomate ; TG : Tube Germinatif.

3.1.1. Infection par pénétration des tissus

Pour infecter des tissus vivants sains, *Botrytis cinerea* doit pénétrer mécaniquement dans la plante. Les conidies de *Botrytis cinerea* adhèrent à la plante par interactions hydrophobes entre leur paroi cellulaire et la cuticule du fruit (Bessis, 1972; Mendgen et Desing, 1993; Cotoras et Silva, 2005; Van Kan, 2006). Lors de la germination sur la baie de raisin, *Botrytis cinerea* sécrète de nombreuses enzymes pour aider à éliminer la première barrière cuticulaire de la plante (Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010). Deux types d'enzymes ont été identifiés, les cutinases et les lipases (Van Kan *et al.*, 1997; Reis *et al.*, 2005; Van Kan, 2006).

Après la dégradation de la cuticule, *Botrytis cinerea* occupe l'espace périplasmique de l'épiderme végétal (Gindro, 2000). Ce dernier est composé de pectines. *Botrytis cinerea* sécrète des enzymes pectinolytiques, donc **la première famille** est celle des pectine-méthylestérases (PME) qui permettent de dégrader les pectines méthylées (Reignault *et al.*, 2000; Valette Collet *et al.*, 2003; Reignault *et al.*, 2008). **La deuxième famille** est celle des pectinelyases qui permettent de dégrader les pectines non méthylées (Movahedi et Heale, 1990).

A ce stade, *Botrytis cinerea* sécrète des enzymes pectinolytiques (exopolygalacturonases et endopolygalacturonases) (Johnston et Williamson, 1992; Have *et al.*, 1998; Kars *et al.*, 2005) qui sont impliquées dans la dégradation de substances pectiques dont le composé principal est l'acide D-galacturonique : les L-galactonate déshydratases, les 2-céto-3-désoxy-L-galactonate aldolases. Un certain nombre de ces enzymes sont nécessaires au processus d'infection. *Botrytis cinerea* produit également des enzymes dégradant la paroi cellulaire de la baie de raisin telles que la cellulase et la β -1,4-xylanase (Noda *et al.*, 2010).

Une autre structure produite par ce champignon appelée selon les auteurs "infection cushions", appressorium complexe (Figure 11C) (Choquer *et al.*, 2007), ou encore " clawlike " (Kunz *et al.*, 2006), pourrait être impliquée dans la pénétration des tissus végétaux.

3.1.2. Infection par des ouvertures naturelles ou blessures

L'infection par le mycélium se produit de fruit à fruit à la maturité de la grappe (Bessis, 1972). Ce mécanisme est dépendant de l'environnement autour de la baie de raisin (la température, l'humidité, etc.). *Botrytis cinerea* peut également infecter les tissus sains par les ouvertures naturelles de la plante telles que les stomates (Fourie et Holz, 1995; Holz *et al.*, 2007) mais il peut aussi les infecter via des blessures. Ces blessures peuvent avoir été occasionnées par les conditions climatiques, les tissus morts, les insectes, les animaux et également les caractéristiques de la cuticule, la taille et l'âge des blessures (Holz *et al.*, 2007). La blessure favorise le développement rapide du champignon en rendant les sucres, source de carbone indispensable à cet organisme hétérotrophe, accessibles (E lad *et al.*, 2007; Pezet *et al.*, 2004).

De plus, des études menées sur des fleurs de vigne infectées artificiellement montrent que les réceptacles floraux, après la chute des capuchons, seraient des sites d'infection privilégiés (Viret *et al.*, 2004; Viret *et al.*, 2010).

3.2. Développement de l'infection dans la baie

Malgré les progrès réalisés d'une manière générale en viticulture et concernant la lutte chimique, le développement des contaminations fongiques reste un souci majeur pour tous les viticulteurs (Blouin et Gimberteau, 2000). Sur vigne, le développement de *Botrytis cinerea* occasionne des dégâts sur feuilles (tâches brunes), rafles (nécrose) et baies (pourrissement et flétrissement) (Dubos, 2002).

Les contaminations de la baie de raisin par *Botrytis cinerea* apparaissent majoritairement après la véraison, période au cours de laquelle le raisin devient sensible à cette maladie (McClellan et Hewitt, 1973; Viret *et al.*, 2001; Viret *et al.*, 2004). Avant la véraison, les baies contiennent une grande quantité de composés ayant une activité antifongique comme des composés lipidiques, des stilbènes, des tanins (Hill *et al.*, 1981; Pezet et Pont, 1986; Jeandet *et al.*, 1991; Pezet et Pont, 1992; Chardonnet *et al.*, 1994; Comménil *et al.*, 1996; Goetz *et al.*, 1999; Bais *et al.*, 2000). Leur pH pourrait aussi expliquer la résistance des baies à *Botrytis cinerea*. La sensibilité des baies à *Botrytis cinerea* après véraison pourrait s'expliquer par une modification de concentration de certains

composés des baies : l'accumulation de sucres et l'élévation du pH, etc., mais aussi par les modifications de la structure physique de la baie : le ramollissement, la diminution de l'épaisseur des parois de la baie de raisin ; la diminution de la teneur en cutine et en pectines pourrait ainsi faciliter l'infection par l'agent pathogène (Ky *et al.*, 2012; Fournier *et al.*, 2013; Lopez Pinar *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017). Des changements occasionnés sur les baies de raisins ainsi que des blessures et des conditions humides permettent le développement et la propagation de *Botrytis cinerea* (Doehlemann *et al.*, 2005).

3.3. Les protéines et polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin

3.3.1. Les protéines sécrétées par *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea va sécréter un grand nombre d'enzymes au cours de l'infection sur les baies de raisin (Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010; Billon *et al.*, 2011). Elles peuvent être classées en quatre catégories :

- Les enzymes d'attaque : la majorité de ces protéines sont des enzymes de dégradation des barrières physiques : cuticule et parois cellulaires, telles que les cutinases, les lipases, les cellulases, les hémicellulases, etc, facilitant la pénétration de l'agent pathogène dans les tissus de l'hôte (Van Kan *et al.*, 1997; Choquer *et al.*, 2007; Kars et van Kan, 2007);

- Les enzymes de détoxification : elles permettent de neutraliser l'effet toxique de la plante (phytoanticipines, phytoalexines) comme les peroxydases, les catalases et les superoxyde dismutases, etc (Rolke *et al.*, 2004; Choquer *et al.*, 2007);

- Les protéases qui vont dégrader des protéines de la plante : les protéases aspartiques, les protéases glutamiques et les protéases à sérine (El Oirdi *et al.*, 2011);

- Les invertases qui sont des enzymes impliquées dans le métabolisme des sucres (Voegelé *et al.*, 2006).

3.3.1.1. Les enzymes de dégradation

Les enzymes impliquées dans la dégradation des barrières physiques sont soit :

- des enzymes impliquées dans la dégradation de la cuticule (les cutinases et les lipases) ;
- des enzymes impliquées dans la dégradation d'autres constituants de la paroi cellulaire de la baie de raisin et sont communément appelées EDPC (Enzymes Dégradant la Paroi Cellulaire).

Les cutinases sont capables de dégrader la cutine de la baie de raisin, polymère d'acides gras en C₁₆ et C₁₈, contenue dans la cuticule (Comménil *et al.*, 1995; Annis et Goodwin, 1997). Une cutinase est exprimée au début de l'infection mais la plupart des cutinases de *Botrytis cinerea* ne semblent pas être indispensables à sa pénétration dans les tissus de l'hôte, et notamment de la baie de raisin (Van Kan *et al.*, 1997).

Chez la vigne, *Botrytis cinerea* sécrète **des lipases** lors de l'infection de la baie de raisin capables d'hydrolyser les fonctions esters des longues chaînes d'acides gras insaturés (Comménil *et al.*, 1999). Des études réalisées à l'aide de mutants ont permis de mettre en évidence que les lipases ne semblent pas être indispensables à l'infection par *Botrytis cinerea* (Choquer *et al.*, 2007).

Les EDPC : Après la cuticule, le champignon doit franchir la paroi des cellules végétales composée principalement de celluloses, d'hémicelluloses et de pectines. Pour cela, *Botrytis cinerea* va libérer de nombreuses enzymes capables de dégrader ces constituants, les EDPC. Celles-ci sont composées de cellulases, d'hémicellulases et de pectinases (Kars et van Kan, 2007). Ces enzymes vont permettre la libération de sucres qui sont une source de carbone importante pour la développement de *Botrytis cinerea* (Williamson *et al.*, 2007).

La cellulose de la baie de raisin peut être dégradée par des cellulases comme des endoglucanases, des cellobiohydrolases et des β -glucosidases. Les endoglucanases vont couper les fibres de cellulose dans les régions internes puis les cellobiohydrolases vont dégrader les extrémités de la cellulose et libérer des molécules de cellobiose ; enfin le cellobiose libéré va être hydrolysé en deux molécules de glucose par les glucosidases (Aro *et al.*, 2005).

Les hémicelluloses, composées de xylane et d'arabinane, peuvent être dégradées par des hémicellulases telles que des xylanases ou des arabinases (Kars et van Kan, 2007).

Les pectines, constituants majeurs de la paroi de la baie de raisin, sont composées d'homogalacturonanes et de rhamnogalacturonanes. Les homogalacturonanes très méthylés sont appelés les pectines, tandis que ceux peu méthylés sont appelés les pectates. Ces composés peuvent être dégradés par les pectinases produites par *Botrytis cinerea*. Au cours de l'infection, *Botrytis cinerea* va sécréter plusieurs types de pectinases (Kars et van Kan, 2007; Lv *et al.*, 2016; Jégou *et al.*, 2017) mais la plupart de celles-ci ne sont pas capables de dégrader les pectines très méthylées telles que les pectates lyases ou les polygalacturonases qui peuvent seulement utiliser les pectates comme substrat (Kars et van Kan, 2007). *Botrytis cinerea* va par contre sécréter des PME qui vont transformer les pectines en pectates afin de faciliter la dégradation de la paroi cellulaire de la baie de raisin par les autres pectinases (Valette Collet *et al.*, 2003; Lv *et al.*, 2016).

3.3.1.2. Les enzymes de détoxification

La plante produit également un grand nombre de molécules issues du métabolisme secondaire, notamment des stilbènes chez la vigne. Pour détoxifier ces molécules, *B. cinerea* possède des oxydases telles que des stilbènes oxydases et des laccases (Goetz *et al.*, 1999; Perret *et al.*, 2003). Elles semblent être impliquées dans la détoxification des phytoalexines comme le resvératrol (Pezet *et al.*, 1991; Sbaghi *et al.*, 1996) et jouent un rôle important dans le processus infectieux car leur inhibition empêche le développement du champignon sur certains hôtes (Viterbo *et al.*, 1992).

3.3.1.3. Les enzymes d'oxydation

La laccase est également une enzyme libérée par *Botrytis cinerea*. Dans le raisin, la laccase oxyde les composés phénoliques de la baie de raisin en utilisant l'oxygène et provoque une altération irréversible de la qualité des moûts avec pour conséquences : le brunissement des jus et la disparition des composés antioxydants du raisin comme le glutathion. Ainsi, si l'oxydation n'est pas maîtrisée par le vinificateur, le risque encouru est la casse oxydasique des moûts (casse brune).

La laccase agit sur une large gamme de composés phénoliques (anthocyanes, tanins, acides phénols). Elle diffuse très facilement dans le moût lors du foulage et du pressurage et est sensible à l'effet conjugué du SO₂ et de l'alcool. Elle est présente dans les vins issus de raisins botrytisés et conduit à des problèmes de stabilité et de qualité de ces vins (Pezet *et al.*, 2003; Cotoras et Silva, 2005).

3.3.1.4. Les protéases

Botrytis cinerea est capable de sécréter différents types de protéases (Espino *et al.*, 2010) et synthétise plus de 252 protéases réparties en 60 familles réunies en 7 classes. Il s'agit des protéases aspartiques, glutamiques, des protéases à cystéine, à sérine et à thréonine, ainsi que des métalloprotéases (Rawlings, 2010; Rawlings *et al.*, 2012).

Les trois familles de protéases les plus étudiées sont les protéases aspartiques, les protéases glutamiques et les protéases à sérine (<http://merops.sanger.ac.uk>). La sécrétion de ces protéases dans le milieu semble être dépendante du pH : les protéases à sérine seraient sécrétées à un pH proche de 7 (Manteau *et al.*, 2003), tandis que les protéases glutamiques et aspartiques le seraient à un pH acide (Manteau *et al.*, 2003).

Parmi ces protéases, les protéases aspartiques peuvent jouer un rôle important dans le processus d'infection de *Botrytis cinerea*. Leur virulence va diminuer lors du traitement de conidies à la pepstatine qui est un inhibiteur spécifique des protéases aspartiques (Movahedi et Heale, 1990).

Ces enzymes pourraient aussi jouer un rôle dans l'hydrolyse des protéines dans la baie de raisin comme les PR-protéines (Pathogenesis-Related Protéines) (El Oirdi *et al.*, 2011).

Les protéases permettent de disposer de matières organiques (azote, acides aminés et soufre) pour le développement de *Botrytis cinerea* (El Oirdi *et al.*, 2011).

3.3.1.5. Les enzymes liées au métabolisme des sucres

Botrytis cinerea sécrète également des invertases qui lui permettent de transformer le saccharose en fructose et glucose (Ruffner *et al.*, 1992; Ruiz et Ruffner, 2002; Voegele *et al.*, 2006). Ces voies métaboliques permettent au champignon d'avoir accès aux sources carbonées pour son développement (Williamson *et al.*, 2007).

3.3.2. Les polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea*

Deux types de polysaccharides exocellulaires sont sécrétés par *Botrytis cinerea* : un hétéropolymère et un glucane.

3.3.2.1. L'hétéropolymère de *Botrytis cinerea*

Le premier polysaccharide sécrété par *Botrytis cinerea* est un hétéropolymère de mannose, de galactose, de glucose et de rhamnose (60/30/5/5) de masse moléculaire comprise entre 10 et 50 kDa (Dubourdiou, 1982; Blouin et Gimberteau, 2000). C'est la forte proportion de mannose qui distingue ces PS de ceux présents dans les baies de raisins sains.

3.3.2.2. Le β -glucane de *Botrytis cinerea*

Le second polysaccharide sécrété est un β -glucane linéaire (Figure 12), appelé cinéréane, avec une chaîne principale contenant des liaisons β -1,3 et des ramifications constituées d'un seul résidu glucose lié en β -1,6 (Dubourdiou, 1982).

Lors de cultures réalisées en milieu liquide au laboratoire, les deux familles de polysaccharides sont produites à raison de 300 mg/L de β -glucane et 50 mg/L d'hétéropolysaccharides (Dubourdiou, 1982). Ces niveaux de production peuvent être dépassés sur raisin car la teneur en polysaccharides solubles des vins issus de raisins botrytisés est supérieure de 750 mg/L à celle des vins obtenus à partir des raisins non contaminés (Dimopoulou, 2013).

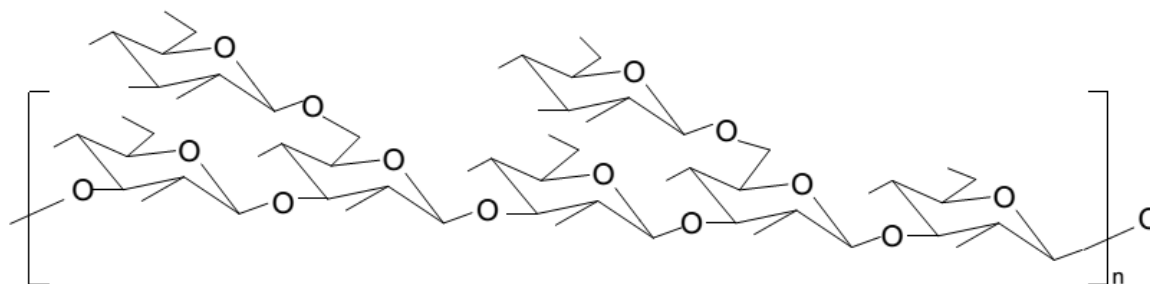


Figure 12. Représentation schématique de l'unité répétitive du β -glucane de *Botrytis cinerea* (Dubourdieu, 1982)

3.4. Impacts du *Botrytis cinerea* sur la qualité des moûts, des vins et la vinification

Les raisins infectés par *Botrytis cinerea* montrent des changements significatifs dans leur composition. Ces changements dépendent largement de la nature et du degré de pourriture (Ribéreau-Gayon, 1988) :

- Au cours du développement, *Botrytis cinerea* consomme 35-45% des sucres présents dans la baie en les transformant en glycérol. Cependant, une augmentation de la concentration en sucres est due à une déshydratation de la baie (Ribéreau-Gayon, 1988) et concerne les baies les plus mûres (Blouin et Gimberteau, 2000).

- Les acides organiques dans les moûts, tels que les acides tartrique et malique, sont métabolisés par *Botrytis cinerea* qui par conséquent, réduit la quantité de ces acides. La réduction de l'acidité entraîne une augmentation du pH du moût (Ribéreau-Gayon, 1988; Blouin et Gimberteau, 2000).

- *Botrytis cinerea* métabolise le glucose pour former du glycérol et de l'acide gluconique (Blouin et Gimberteau, 2000; Dubos, 2002). La concentration en acide gluconique dans les moûts botrytisés va être comprise entre 2 et 20 mg/L (Blouin et Gimberteau, 2000) tandis que celle en glycérol est de 1 à 10 g/L (Ribéreau-Gayon, 1988). Il est important de noter que la quantité d'acide gluconique est significativement plus élevée lorsque la baie de raisin est envahie par *Gluconobacter* (Ribéreau-Gayon, 1988). L'acide gluconique peut être utilisé comme un marqueur de la contamination fongique par *Botrytis cinerea* (Ribéreau-Gayon, 1988). En Champagne, la teneur moyenne en acide gluconique (de l'année 2007 à l'année 2016) des moûts est de 0,1 à 0,17 g/L (Tusseau *et al.*, 2017).

- Des PS complexes sont produits par la dégradation de la paroi cellulaire de la baie de raisin par *Botrytis cinerea* (Blouin et Gimberteau, 2000; Gil-ad *et al.*, 2001) et ont un impact négatif sur la clarification et la filtration des moûts ou des vins. Les hétéropolysaccharides semblent exercer un effet inhibiteur sur l'activité des levures et induisent des teneurs élevées en acide acétique et en glycérol dans le vin (Ribéreau-Gayon, 1988; Blouin et Gimberteau, 2000; Dubos, 2002).

- Les composés aromatiques tels que les terpènes sont dégradés au cours de la contamination par *Botrytis cinerea* et divers « mauvais » goûts apparaissent tels que des goûts iodé, phénolé, camphré, moisi.

- Les enzymes, et tout particulièrement la laccase qui est résistante au SO₂ (Dubernet *et al.*, 1977; Boulton *et al.*, 1996; Jackson, 2000), au pH acide et qui ne peut être éliminée par débouillage, est responsable (i) de l'oxydation rapide des moûts (en particulier, l'oxydation des composés phénoliques dont les anthocyanes (Mayer et Staples, 2002), et (ii) de dégradations aromatiques. Il y a aussi formation d'estérases capables de modifier, par la suite, les arômes fermentaires et de nombreuses autres enzymes indésirables comme les polyphénoloxydases (réactions d'oxydation des polyphénols) (Blouin et Gimberteau, 2000; Ky *et al.*, 2012). Ces réactions sont observées sur les moûts, en cas de fortes activités enzymatiques. Le dosage de la laccase (Grassin et Dubourdieu, 1989; Dewey *et al.*, 2008) permet de caractériser l'activité du champignon (Ribéreau-Gayon, 1988; Blouin et Gimberteau, 2000; Ky *et al.*, 2012).

- L'infection des baies de raisin par *Botrytis cinerea*, capable de consommer l'azote ammoniacal et diverses vitamines (dont la thiamine) peut entraîner des problèmes de fermentation ; en effet, ce sont des facteurs limitants pour la croissance des levures au cours de la fermentation (Blouin et Gimberteau, 2000).

- Dans le vignoble de Champagne, le taux d'infection par *Botrytis cinerea* peut atteindre 15-25% selon le millésime (Hong *et al.*, 2011), le taux d'infection d'une grappe est exprimé en nombre de baies de raisin infectées en pourcentage du nombre total des baies de raisin. L'infection par *Botrytis* est considérée comme indésirable dans les vins de Champagne en ce qui concerne les qualités organoleptiques telles que la couleur, le goût, l'odeur (Bocquet *et al.*, 1995; Hong *et al.*, 2011). En particulier, il a été observé une diminution voire une perte des propriétés moussantes de vins de Champagne qui serait causée par la dégradation de protéines de raisin par des protéases sécrétées par *Botrytis cinerea* (Marchal *et al.*, 2001; Marchal *et al.*, 2006; Cilindre *et al.*, 2007; Cilindre *et al.*, 2008).

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matières premières et élaboration des moûts et vins de base

1.1. Les raisins

1.1.1. Les cépages

Le choix des cépages s'est porté sur deux variétés de raisin parmi les 3 que compte la Champagne : le Chardonnay et le Pinot meunier. Ces deux cépages sont en parfaite adéquation avec le sol et le climat de la région Champagne.

- Le Chardonnay : est le seul cépage blanc. Les vins de Chardonnay se caractérisent par des arômes délicats, des notes florales, d'agrumes, parfois minérales. A évolution lente, c'est le cépage idéal pour le vieillissement des vins.

- Le Pinot meunier : est un cépage noir à moût blanc. Il est le plus « rond » par rapport aux autres cépages. Les vins qui en sont issus se distinguent par des arômes de fruits rouges et une structure marquée. C'est le cépage qui apporte à l'assemblage fraîcheur et arômes de fruits blancs (pêche, nectarine).

1.1.2. Les millésimes

Les grappes de raisins prélevées pour chacune des étapes de l'étude sont issues de trois millésimes différents : 2013 (Pinot meunier), 2014 (Chardonnay) et 2015 (Pinot meunier et Chardonnay).

Le prélèvement et l'échantillonnage des grappes sont essentiels dans l'évaluation de la qualité car ils se doivent d'être le plus représentatif possible de la parcelle tout en tenant compte de l'hétérogénéité existante. Ces méthodes doivent donc assurer un prélèvement reproductible afin de pouvoir comparer entre eux soit des parcelles, des dates de prélèvements (**niveaux de maturité**), des systèmes de conduites culturales, des millésimes et des états sanitaires différents (**présence de *Botrytis***).

1.2. Prélèvements des grappes pour l'étude de l'impact de *Botrytis cinerea*

Prélèvement à la vigne : les grappes de raisin Chardonnay sain et botrytisé ont été récoltées dans la région de Reims (commune de Cernay-lès-Reims), en Septembre 2014. Le taux d'infection d'une grappe a été exprimé en nombre de baies de raisin infectées en pourcentage du nombre total des

baies de raisin ; il a été estimé visuellement à environ 30% (par nombre) de contamination par *Botrytis cinerea* au stade de modifications de la structure physique de la baie des raisins (le ramollissement, la diminution de l'épaisseur des parois de la baie de raisin ; la diminution de la teneur en cutine et en pectines pourrait ainsi faciliter l'infection par l'agent pathogène).

Des rangs de vigne ont été repérés et sélectionnés pour réaliser le prélèvement. Les ceps localisés en bordure de rang ne sont pas choisis. Les prélèvements se font sur les deux faces des rangs, où alternativement les grappes situées en position haute et basse sont prélevées. Les prélèvements doivent être effectués sur des ceps repérés sur des rangs identifiés jusqu'à obtention d'un peu plus de 6 kg de grappes de raisin pour chaque échantillon. Ensuite, les grappes ont été placées dans des bacs en plastique, tapissées de papier absorbant au cas où la vendange aurait été mouillée avant le transport au laboratoire (15 minutes maximum).

Réception de l'échantillon en laboratoire : si la vendange est encore humide, la sécher au sèche-cheveux (air tiède et à distance), compter exactement 6 kg de grappes de raisin pour chacun des échantillons. Chaque grappe est pesée afin de déterminer un poids moyen des grappes.

Les raisins Chardonnay 2014 ont été prélevés au stade de maturité technique (TAP : 8,7-10,8% vol) sur une parcelle de Cernay-lès-Reims (Marne, AOC Champagne) :

- Chardonnay à maturité (raisin sain)
- Chardonnay à maturité avec une contamination par *Botrytis cinerea* (raisin botrytisé)

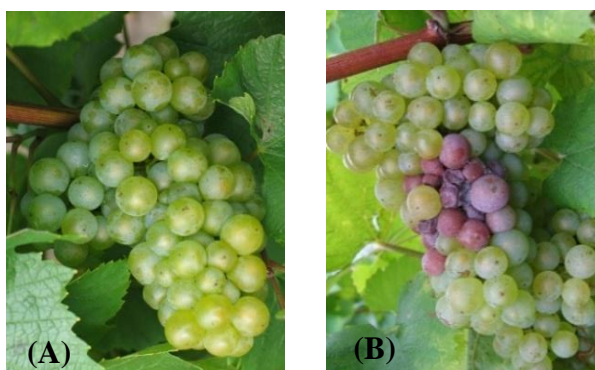


Figure 13. Raisin à maturité

(A) : Chardonnay sain ; (B) : Chardonnay contaminé par *Botrytis cinerea*

(Photos par Richard Marchal, Laboratoire d'Œnologie et Chimie Appliquée,
URVVC EA 4707, Université de Reims Champagne-Ardenne, France)

1.3. Prélèvements des grappes pour le suivi de la maturité des baies de raisin

Des baies de raisin, des deux cépages Chardonnay et Pinot meunier, ont été récoltées dans la Marne, AOC Champagne pour millésime 2015. Les prélèvements ont été réalisés au stade de maturité technique (Chardonnay : 3 stades, et Pinot meunier : 4 stades). Le 12 kg des grappes à la vigne ont été récoltés par prélèvement afin de réaliser deux pressurages pour chaque cépage et pour chaque stade de maturité.

Des raisins Chardonnay 2015 ont été prélevés à 3 stades de maturité sur une parcelle de Cernay-lès-Reims (Marne, en Champagne) :

- Stade de maturité I : CHY I, prélèvement le 01.09.2015
- Stade de maturité II : CHY II, prélèvement le 07.09.2015
- Stade de maturité III : CHY III, prélèvement le 17.09.2015 (date de vendange de la parcelle)

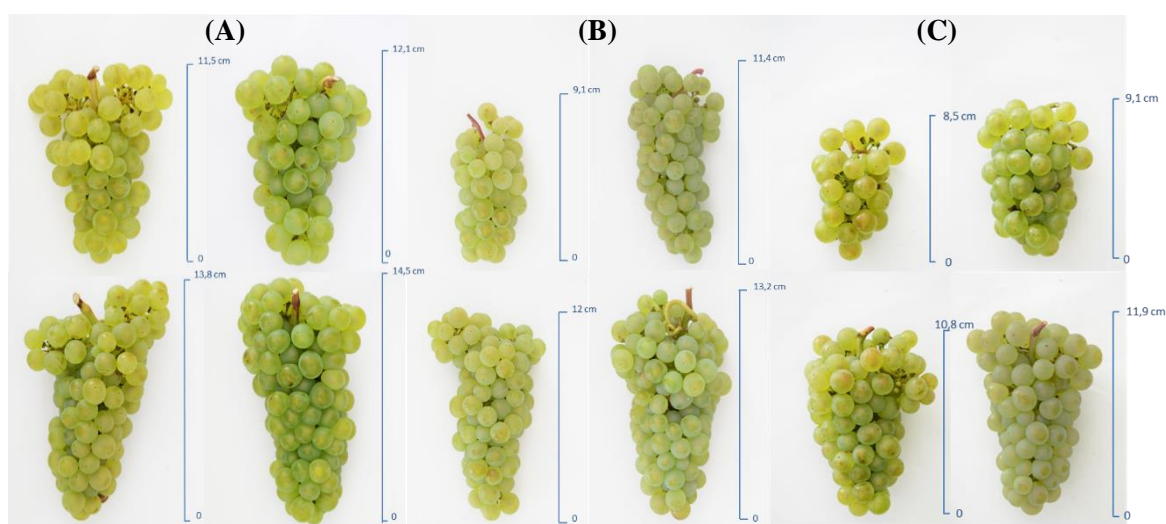


Figure 14. Chardonnay 2015 à 3 stades de maturité

(A) Chardonnay à maturité I (01.09.2015) ; (B) Chardonnay à maturité II (07.09.2015) et
(C) Chardonnay à maturité III (17.09.2015)

Réception de l'échantillon en laboratoire : si la vendange est encore humide, la sécher au sèche-cheveux, compter exactement 2 x 6 kg des grappes pour chacun des échantillons (2 répétitions) et peser chaque grappe afin de déterminer un poids moyen des grappes.

Des raisins Pinot meunier 2015 ont été prélevés à 4 stades de maturité sur une parcelle de Pourcy (Marne, en Champagne) :

- Stade de maturité I : PM I, prélèvement le 02.09.2015 (véraison non achevée)
- Stade de maturité II : PM II, prélèvement le 03.09.2015 (véraison achevée)
- Stade de maturité III : PM III, prélèvement le 10.09.2015

- Stade de maturité IV : PM IV, prélèvement le 15.09.2015

Date de vendange de la parcelle : 13.09.15

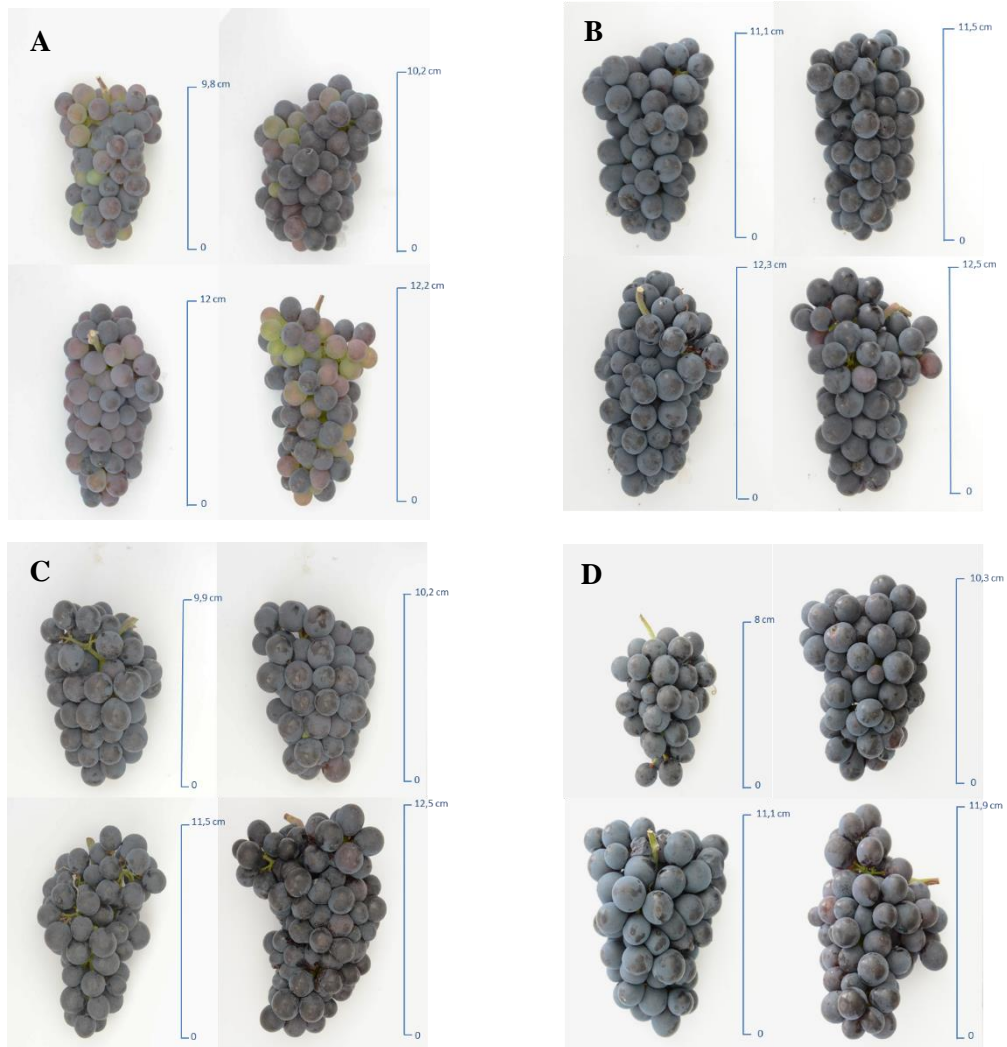


Figure 15. Pinot meunier 2015 à 4 stades de maturité

(A) Pinot meunier à maturité I (02.09.2015) ; (B) Pinot meunier à maturité II (03.09.2015) ;
(C) Pinot meunier à maturité III (10.09.2015) et (D) Pinot meunier à maturité IV (15.09.2015)

1.4. Prélèvements des moûts au cours du fractionnement au pressurage

1.4.1. Pressurage avec pressoir industriel

Au cours du cycle de pressurage, 6 jus de raisin (Figure 16) ont été obtenus à partir d'un pressoir pneumatique de la Maison de Champagne Paillard (Reims) qui a une capacité de 8000 kg. Les échantillons de moûts ont été prélevés au milieu de chaque cycle du pressurage suivant : Serre 1 (S1), Serre 2 (S2) et Serre 3 (S3) à la pression 0,6 bar. Pour la Serre 4 (S4) et la Serre 5 (S5), les prélèvements sont réalisés à 0,8 bar. L'auto-pressurage (AP) a été également prélevé. Tous les jus sont prélevés dans des bouteilles de 1,5 litres. Le dioxyde de soufre (SO₂) a été ajouté à une concentration de 6 g/hL de jus à la sortie du pressoir pour éviter les réactions d'oxydation.

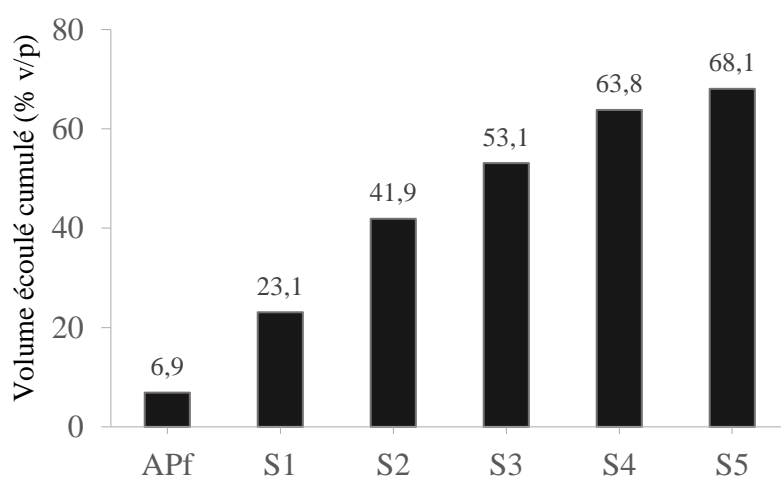


Figure 16. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins ; % v/p : rapport du volume écoulé cumulé de jus extrait par 8000 kg de raisin (v : volume ; p : poids)

Pour des raisons expérimentales, le dernier prélèvement effectué est déjà hors AOC Champagne qui est proche de 2 litres pour 3 kg de raisin, soit une valeur proche de 66% v/p.

1.4.2. Pressurage avec pressoir de laboratoire

Le raisin a été pressé et les jus ont été extraits à l'aide d'un petit pressoir à main, vertical, rempli avec 6 kg de raisin seulement pour améliorer le rapport diamètre/hauteur de raisin (capacité de 10 kg). Afin d'extraire les composés souhaités (et surtout afin d'éviter la libération des composés non souhaités), il a été nécessaire de maîtriser la pression exercée et la durée de chaque serre. En début de pressurage, le pressurage a été réalisé de manière progressive pour ne pas

excéder 1 bar. Après chaque montée en pression, il faut attendre quelques minutes pour permettre au moût de s'écouler. Lorsqu'on a atteint le volume souhaité pour chaque serre (identique en % aux pressoirs industriels), on effectue une retrousse. Les fractions collectées donnent les jus de S1 à S5, et AP. La durée totale du pressurage a été de trois heures.

Impact de l'état sanitaire du raisin (*Botrytis cinerea*)

Cinq fractions de jus sains (S1S, S2S, S3S, S4S, S5S) et cinq fractions de jus botrytisés (S1B, S2B, S3B, S4B, S5B) (Figure 17) ont été obtenues au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014 sains et botrytisés. Le dioxyde de soufre a été ajouté à la dose de 6 g/hL de jus à la sortie du pressoir.

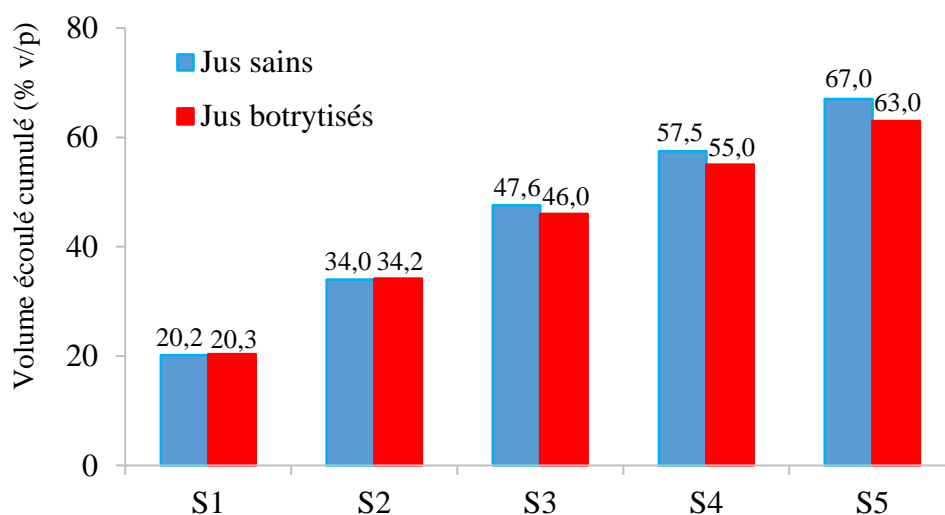


Figure 17. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des raisins Chardonnay 2014 sains et botrytisés. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins ; % v/p : rapport du volume écoulé cumulé de jus extrait par 6 kg de raisin (v : volume ; p : poids)

Impact de la maturité des baies de raisin

Les jus ont été préparés à partir des grappes entières de Chardonnay (3 stades de maturité) et de Pinot meunier (4 stades de maturité) lors du millésime 2015. Les différents fractionnements sont présentés dans les Figure 18 et Figure 19. Le dioxyde de soufre a été ajouté à la dose de 6 g/hL dans les jus à la sortie du pressoir pour éviter tout développement bactérien et pour éviter l'oxydation des moûts (la concentration SO₂ utilisée dépende l'état sanitaire (conditions de production viticole) et de récolte (rapidité, température de la vendange, hygiène). Pour prévoir et raisonner la dose de SO₂ à apporter, il faut d'abord s'interroger sur le niveau de SO₂ libre souhaité. La dose est 4 à 6 g/hL a utilisée pour les activités antilevuriennes et antibactériennes).

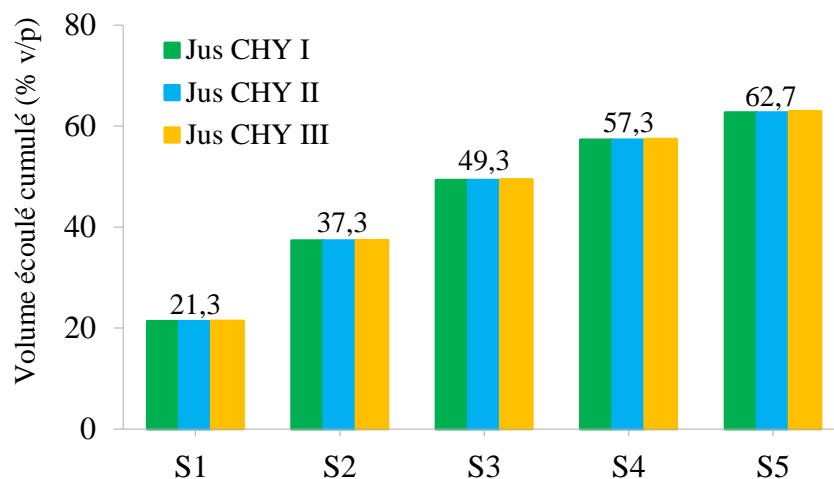


Figure 18. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins ; % v/p : rapport du volume écoulé cumulé de jus extrait par 6 kg de raisin (v : volume ; p : poids)

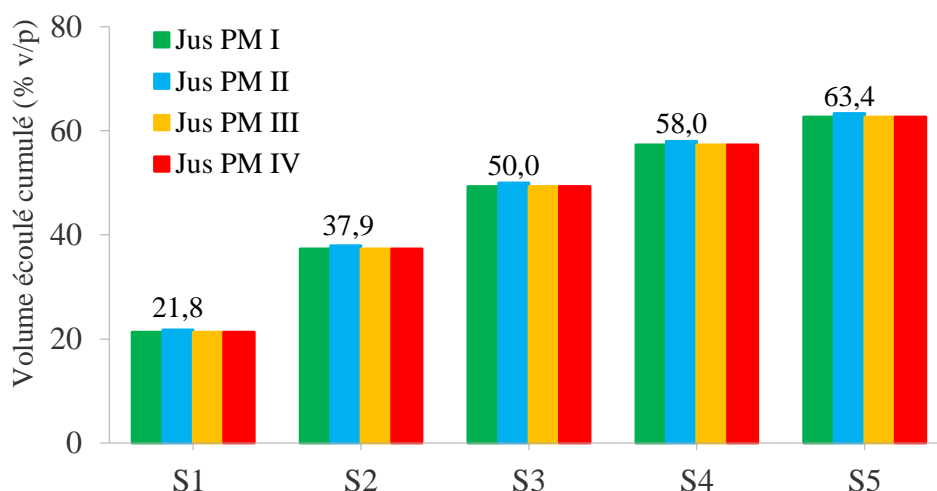


Figure 19. Volume écoulé cumulé (% v/p) durant le pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins ; % v/p : rapport du volume écoulé cumulé de jus extrait par 6 kg de raisin (v : volume ; p : poids)

1.5. La vinification des moûts issus du fractionnement au pressurage

Les vins ont été élaborés à partir de chaque moût prélevé. Les levures sélectionnées (*Saccharomyces cerevisiae*) ont été activées dans un mélange 50% d'eau et 50% de moût chauffé à 30°C. Elles ont été laissées ensuite pendant 15 minutes à cette température avant de les mélanger uniformément aux moûts. Les levures ont été ajoutées aux jus à la concentration de 0,2 g/L (soit environ $2 \cdot 10^6$ cellules/mL). La fermentation alcoolique a été réalisée à 18°C (pièce climatisée).

Au début de la fermentation, la densité des moûts s'est comprise entre 1,058 et 1,080 g/cm³. Un suivi de densité a été effectué tout au long de la fermentation et ceci, par des mesures quotidiennes

à l'aide d'un densimètre (Anton-Paar). La fermentation s'arrête lorsque la densité des moûts atteint 0,993 à 0,996 g/cm³. Ensuite, du dioxyde de soufre a été ajouté aux vins pour éviter tout développement bactérien et pour éviter l'oxydation des vins. La fermentation malolactique n'a pas été réalisée pour ces vins.

Pour les vins de Pinot meunier 2013, suite à la fermentation alcoolique, le dioxyde de soufre a été ajouté à la dose de 6 g/hL de vin. Ensuite, les vins ont été centrifugés à 17000g pendant 10 minutes à 15°C, puis conservés pendant un mois au cellier à la température de 11°C et conservés pendant 2 mois à 4°C (stabilisation tartrique). Les vins sont alors filtrés sur une membrane de 0,45 µm pour supprimer des particules colloïdales insolubles et des cristaux de tartrate dans le but d'analyser leur composition et de déterminer leurs caractéristiques œnologiques.

Pour les vins de Chardonnay sains et botrytisés du millésime 2014, suite à la fermentation alcoolique, le dioxyde de soufre a été ajouté à la dose de 7,5 g/hL de vin. Ensuite, les vins ont été centrifugés à 17000g pendant 10 minutes à 15°C, puis conservés pendant un mois au cellier à la température de 11°C et à 4°C pendant 2 mois (stabilisation tartrique). Les vins sont filtrés sur une membrane de 0,45 µm afin de supprimer des particules colloïdales insolubles et des cristaux de tartrate dans le but d'analyser leur composition et de déterminer leurs caractéristiques œnologiques.

Pour les vins de Chardonnay et de Pinot meunier 2015, suite à la fermentation alcoolique, le dioxyde de soufre a été ajouté à la dose de 7,5 g/hL de vin. Ensuite, les vins ont été centrifugés à 17000g pendant 10 minutes à 15°C, puis conservés pendant un mois au cellier à la température de 11°C et à 4°C pendant 2 mois (stabilisation tartrique). Les vins sont filtrés sur une membrane de 0,45 µm pour supprimer des particules colloïdales insolubles et des cristaux de tartrate dans le but d'analyser leur composition et de déterminer leurs caractéristiques œnologiques.

Note : Lorsqu'une vendange manque de maturité, il est possible de compenser par un ajout de sucre (chaptalisation) cristallisé le léger déficit en sucre. La quantité de sucre cristallisé à apporter en kg/hL de moût, pour obtenir le degré alcoolique désiré en % vol, a été définie par le tableau simplifié (pour la détermination de la chaptalisation) à partir de la masse volumique à 20°C de moût (Annexe 2). L'expérience de suivi de nombreuses vendanges montre que pour obtenir un degré final de 11% vol d'alcool, il est souhaitable de viser 11% vol pour le Chardonnay et 11,2% vol pour le Pinot meunier.

2. Détermination des paramètres œnologiques des moûts et vins

2.1. Mesure du pH

Méthode : potentiométrie automatique

Méthode dérivée de la méthode de référence selon l'OIV.

Texte de référence : pH (OIV-MA-AS313-15) – METHODE TYPE I (Annexe 2).

Méthode automatisée. Appareil : ATP 3000 (ISITEC).

Une faible partie de l'acidité totale (acidité libre) est ionisée en libérant des ions H_3O^+ . Ce sont les ions qui procurent l'essentiel de la sensation gustative acide exprimée par le pH. Le pH d'une solution aqueuse est le cologarithme de sa concentration en ions H_3O^+ , déterminée en mesurant le potentiel électrique qui s'établit entre deux électrodes différentes plongées dans le milieu ; on utilise le couple électrode de verre - électrode au calomel.

Le pH permet de caractériser l'acidité du moût. Le pH d'un moût de raisin à maturité se situe généralement entre 2,9 et 3,4 en Champagne et varie selon la sous-région, le cépage, l'état de maturité et les conditions climatiques.

2.2. Masse volumique et densité relative à 20°C

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de vin ou de moût à 20°C par ce volume. Elle s'exprime en grammes par millilitre et son symbole est $\rho_{20^\circ C}$ (Annexe 4).

La densité relative à 20°C ou densité 20°C/20°C est le rapport, exprimé en nombre décimal, de la masse volumique des vins ou de moût à 20°C à la masse volumique de l'eau à la même température. Son symbole est : $d^{20^\circ C}$.

Le sucre du moût est transformé en éthanol et CO_2 durant la fermentation alcoolique, ce qui abaisse sa densité. La densité est mesurée par un densimètre électronique portable (DMA 35, Anton Paar).

2.3. Mesure du titre alcoométrique potentiel (TAP % vol)

Le sucre est transformé en alcool durant le processus de vinification. La masse volumique du moût permet de déterminer la teneur en sucres. Le TAP est issu de la teneur en sucres. Le résultat du TAP est basé sur le rendement de la levure (16,83 g/L de sucres génèrent 1% volume

en alcool probable). La masse volumique est déterminée par densimétrie électronique (méthodes OIV-MA-AS2-01A : R2012) (Annexe 4). Les résultats de sucres en g/L et du TAP en % vol sont issus du tableau II de la méthode OIV-MA-AS2-01B (Annexe 5).

2.4. Mesure du titre alcoométrique volumique (TAV % vol)

Méthode : Réflectance infra-rouge automatique. Texte de référence sur le principe de la méthode : l'infraAlyzer 400 : une détermination automatique du titre alcoométrique des vins (Cabanis *et al.*, 1983).

La méthode utilisée dans cette étude repose sur l'exploitation du spectre d'absorption de l'éthanol dans le proche infra-rouge. Des bandes d'absorption caractéristiques de l'éthanol ont été sélectionnées et une corrélation est établie entre la concentration de l'alcool et leur intensité respective.

Une exploitation mathématique par un logiciel permet d'obtenir, à partir de la mesure de ces intensités, directement le titre alcoométrique.

Matériel : SpectraAlyzer (Zeutec).

2.5. Mesure de l'acidité

2.5.1. L'acidité totale

Méthode : Titration potentiométrique automatique

L'acidité totale (A.T.) est la somme des acidités titrables lorsqu'on amène le pH à 7 par addition d'une solution de soude à 0,1M. L'acide carbonique, l'anhydride sulfureux libre et combiné ne sont pas compris dans l'acidité totale. En France, les résultats sont exprimés en g H₂SO₄/L ou en g/L d'acide tartrique.

Appareil : ATP 3000 (ISITEC).

2.5.2. L'acidité volatile

L'acidité volatile (AV) est un paramètre important de la qualité des vins. Par ce terme, on désigne toutes les formes (libres et salifiées) des acides volatils potentiellement présents dans le vin ; il s'agit néanmoins très majoritairement de l'acide acétique. L'AV est mesurée en grammes d'acide sulfurique par litre de vin.

Quand un vin subit une attaque par les bactéries acétiques, le taux d'acide acétique augmente. L'AV est définie comme étant l'ensemble des acides gras appartenant à la série acétique présents dans le vin. Les acides gras de la série acétique sont séparés des autres constituants des vins par

micro-distillation sous courant d'azote continu, en présence d'acide tartrique et de peroxyde d'hydrogène.

L'acidité du distillat est mesurée après la coloration d'un indicateur de pH, le Bleu de Bromophénol ajusté à pH=5,07 et à une longueur d'onde de 460 nm (Dubernet, 1976).

2.6. Dosage des sucres

2.6.1. Dosage des sucres de la baie

La réfractométrie est une méthode optique couramment utilisée pour estimer le taux de sucre dans les moûts de raisin, en particulier lors de prélèvements à la vigne lorsqu'on souhaite une estimation rapide du TAP de la future récolte, en vue de décider de la date des vendanges. Cela a été notre cas pour l'étude de l'impact de la maturité sur les caractéristiques des moûts et des vins. La mesure faite à la vigne permet de savoir si le prélèvement peut être réalisé. Dans un second temps, la mesure précise de la densité du jus après pressurage permet de déterminer la teneur exacte en sucres fermentescibles.

Cette méthode utilise le principe de réfraction de la lumière. Un faisceau lumineux est dévié différemment selon la nature du milieu dans lequel il se propage.

Une des unités utilisée (Suisse, Allemagne, USA, Alsace...) est le degré brix ($^{\circ}\text{Bx}$) où $1^{\circ}\text{Bx} = 1 \text{ g}$ de saccharose pour 100 g de solution. Si la solution n'est pas composée de saccharose comme c'est le cas pour les jus de raisin (mélange glucose + fructose), alors le degré brix est une estimation du pourcentage total de composés solubles présents dans la baie. Dans le raisin, 90% des composés solubles sont représentés par les sucres. On peut donc considérer que pour le raisin, la valeur de Brix est une bonne approximation de la quantité de sucres dans l'échantillon. Les résultats obtenus en $^{\circ}\text{Bx}$ permettent le calcul de la concentration des composés solubles, en grammes par litre.

L'appareil que nous avons utilisé (Réfractomètre RCT 0-22% vol TAP Fabre Mesurelec S.A. - France) donne directement le résultat en TAP% vol (lecture directe sur l'échelle dans le viseur) sur la base d'un rendement fermentaire de 16,83 g de sucres consommés pour produire 1% v/v d'éthanol.

2.6.2. Dosage des sucres dans les moûts

La richesse en sucres des moûts permet d'estimer le TAP des vins correspondants. Après fermentation complète, la concentration en sucres représente la teneur en sucres résiduels des vins. Le calcul de la teneur en sucres se fait sur la base de la masse volumique.

Mesure de la masse volumique à 20°C : Méthode OIV-MA-AS2-01A Méthode type 1 (Annexe 4).

Définition : La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de vin ou de moût à 20°C par ce volume. Elle s'exprime en grammes par millilitre et son symbole est $\rho_{20^{\circ}\text{C}}$.

La densité relative à 20°C ou densité 20°C/20°C est le rapport, exprimé en nombre décimal, de la masse volumique des vins ou des moûts à 20°C à la masse volumique de l'eau à la même température. Son symbole est : $d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}}$

Principes des méthodes : La masse volumique des vins est mesurée par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion. Le principe consiste à mesurer la période d'oscillation d'un tube contenant l'échantillon soumis à une excitation électromagnétique. La masse volumique est liée à la période d'oscillation par la formule suivante :

$$\rho = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \quad (1)$$

ρ = masse volumique de l'échantillon

T = période de vibration induite

M = masse du tube vide

C = constante de rappel

V = volume de l'échantillon en vibration

Cette relation (1) est de la forme, $\rho = A T^2 - B$ (2). Il existe donc une relation linéaire entre la masse volumique et la période élevée au carré. Les constantes A et B sont spécifiques pour chaque oscillateur et sont estimées en mesurant la période des fluides de masse volumique connue. Une fois la masse volumique à 20°C mesurée, la conversion en sucres est réalisée grâce au tableau élaboré par le CIVC.

Appareil : Densimètre électronique DMA 48 (Anton Paar).

2.6.3. Dosage du glucose et du fructose dans les vins

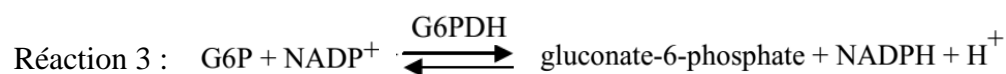
Méthode de dosage : méthode automatisée et spectrophotométrie UV-visible (analyseur séquentiel Hitachi 911). Cette méthode est une méthode dérivée de la méthode OIV-MA-SA311-021 (méthode de type II) (Annexe 6).

Principe :

Le glucose et le fructose sont phosphorylés par l'adénosine 5-triphosphate (ATP) en glucose-6-phosphate (G6P) et en fructose-6-phosphate (F6P), réactions catalysées par l'hexokinase (HK) :



En présence de glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6P-DH), le glucose-6-phosphate est oxydé par le nicotinamide-adénine-phosphate (NADP) en gluconate-6-phosphate. Il se forme du nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit (NADPH) (réaction 3).



La quantité de NADPH formée au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de glucose. On la détermine par son absorption à 340 nm. A la fin de la réaction 3, le F6P est transformé en G6P par la phosphoglucose-isomérase (PGI) (réaction 4).



Le G6P formé réagit à son tour avec le NADP en formant du gluconate-6-phosphate et du NADPH. La quantité de NADPH formée est mesurée à nouveau ; elle est proportionnelle à la quantité de fructose.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.7. Dosage des acides organiques

2.7.1. L'acide tartrique

Méthode : méthode colorimétrique automatisée et spectrophotométrie UV-visible.

L'acide tartrique (tartrate), en milieu acide forme un complexe coloré en réagissant avec l'acide vanadique. La quantité produite du chromophore est proportionnelle à la quantité d'acide tartrique présente dans l'échantillon.

La concentration molaire des constituants utilisés dans la préparation des réactifs a été optimisée pour obtenir une réponse analytique la plus linéaire possible.

La présence d'acide malique dans l'échantillon peut interférer sur la mesure, de façon soustractive et proportionnellement à sa concentration. Il est donc nécessaire de déterminer préalablement la concentration en acide malique pour corriger le résultat de l'acide tartrique.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

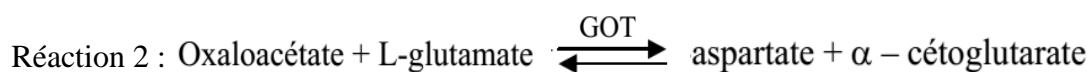
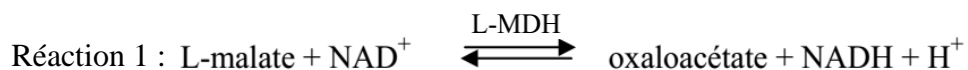
2.7.2. L'acide malique

Méthode dérivée de la méthode OIV-Ma-AS313-11 (méthode type II) (Annexe 7).

Méthode de dosage : méthode automatisée et spectrophotométrie UV-visible.

En présence de nicotinamide-adénosine-dinucléotide (NAD), l'acide L-malique (L-malate) est oxydé en oxaloacétate par la L-malate déshydrogénase (L-MDH).

La présence de NAD^+ et de l'enzyme malate deshydrogénase (MDH) induit la formation d'oxaloacétate et de $\text{NADH} + \text{H}^+$. L'apparition de NADH est directement mesurable à 340 nm par spectrophotométrie et est proportionnelle à la quantité d'acide malique présent dans l'échantillon.



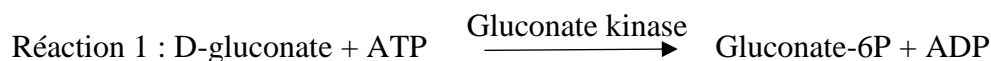
En éliminant l'oxaloacétate du milieu réactionnel, on oriente la réaction (1) dans le sens \rightarrow oxaloacétate. En présence de L-glutamate, l'oxaloacétate est transformé en L-aspartate (réaction 2) par la glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT).

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.7.3. L'acide gluconique

Méthode de dosage : méthode automatisée et spectrophotométrie UV-visible.

L'acide D-gluconique (D-gluconate) est phosphorylé par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) en gluconate-6-phosphate en présence de la gluconate kinase (réaction 1).



En présence de 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGDH), le gluconate-6-phosphate est oxydé par le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADH) en ribulose-5-phosphate. Il se forme de la nicotiamide-adénine dinucléotide phosphate (NADPH) réduite (réaction 2).



La quantité de NADPH formée au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de gluconate. L'augmentation de l'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 340, 334 ou 365 nm.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.8. Dosage de l'azote

Les moûts de raisin renferment trois types majoritaires d'azote. Ce sont les ions ammonium, les acides aminés et les polypeptides. Dans cette étude, nous nous intéresserons au dosage de

l'azote assimilable, c'est-à-dire les ions ammonium et l'azote provenant du groupement α -aminé des acides aminés. Le dosage individuel des acides aminés n'a pas été effectué.

2.8.1. L'azote ammoniacal

Méthode : enzymatique automatisée par analyseur séquentiel

Principe de la réaction : en présence de glutamate déshydrogénase (GIDH) et de nicotinamide-adénine dinucléotide réduit (NADH), l'azote ammoniacal (NH_4^+) réagit avec le 2-oxoglutarate pour former du L-glutamate et du NAD^+ (forme oxydée du NADH).



La teneur de NADH oxydée au cours de la réaction est stœchiométrique à la teneur en azote ammoniacal. La disparition de NADH est mesurée à 340 nm.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.8.2. L'azote alpha-aminé

Méthode : méthode colorimétrique automatisée par analyseur séquentiel.

En milieu basique à pH contrôlé, l'azote des groupements aminés primaires réagit avec l'orthophtaldéhyde (OPA) en présence de N-acétyl-L-cystéine (NAC) pour former un complexe qui présente un maximum d'absorbance entre 335 et 345 nm. L'absorbance mesurée à 340 nm est proportionnelle à la quantité d'azote α -aminé présent dans l'échantillon.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.8.3. L'azote assimilable

L'azote assimilable est la somme de l'azote alpha-aminé et de l'azote ammoniacal. Cette affirmation n'est pas tout à fait exacte ; cependant cette technique automatisée est de plus en plus appliquée en œnologie afin de limiter les dosages par formol titration (seul dosage à doser l'azote assimilable) compte tenu de la dangerosité des produits utilisés.

La technique utilisée au laboratoire dose la proline et ne dose pas les peptides contrairement à la formol titration.

2.9. Dosage du calcium

Méthode : méthode colorimétrique automatisée et spectrophotométrie UV-visible.

A pH neutre, le calcium forme avec l'arsénazo III un complexe bleu, dont l'intensité de coloration est proportionnelle à la concentration en calcium. L'addition d'acide 8-hydroxyquinoine-5-sulfonique élimine l'interférence due au magnésium.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.10. Dosage du potassium

Méthode : méthode colorimétrique automatisée et spectrophotométrie UV-visible.

L'ion potassium, par réaction avec le tétraphénylborate de sodium, forme une solution colloïdale. Des additifs appropriés permettent de stabiliser la suspension et évitent les interférences avec les autres cations. La turbidité produite est proportionnelle à la concentration en potassium et peut être mesurée par photométrie.

Appareil : Analyseur séquentiel Hitachi 911.

2.11. Mesure de l'indice Folin-Ciocalteu

Principe de la méthode : Tous les composés phénoliques sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu. Dans les vins, d'autres substances réductrices peuvent interférer, comme par exemple les sucres et le dioxyde de soufre. Cette interférence peut être évaluée en mesurant un "blanc" dépourvu de substances phénoliques, préparé en traitant l'échantillon correspondant au charbon actif. Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui, lors de l'oxydation des substances réductrices présentes dans le vin, est réduit en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 750 nm.

Le protocole consiste à introduire 0,2 mL de vin filtré à 0,45 μ m dans une fiole de 20 mL et à ajouter 1 mL du réactif de Folin et 2 mL de carbonate de sodium à 20 %. La fiole est complétée au trait de jauge avec de l'eau ultrapure. Un blanc est réalisé en remplaçant le vin par 0,2 mL d'eau ultrapure.

La coloration se développe pendant 30 minutes et l'absorbance des vins est lue à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (UV-1800, Shimadzu) par rapport au blanc et sous un centimètre de trajet optique.

On obtient l'indice de Folin-Ciocalteu (IFC) en multipliant l'absorbance par 20 pour les vins blancs.

3. Détermination des caractéristiques œnologiques des vins

3.1. Mesure de la conductivité

La conductivité est la capacité d'un liquide (un vin) à conduire le courant électrique. Il y a une corrélation entre la conductivité d'un vin et sa teneur en potassium (principal cation des vins). En Champagne, on mesure donc la conductivité pour vérifier la stabilité des vins vis-à-vis des précipitations tartriques, après le traitement par le froid. On vérifie donc par la mesure de la conductivité, que le traitement par le froid a été efficace.

Le principe de base de la mesure de conductivité : l'appareil de mesure applique une tension électrique à la solution à mesurer. Un courant électrique circule en fonction de la conductivité. Suivant la méthode ou l'application, l'appareil de mesure impose une tension constante et enregistre la variation du courant électrique, ou bien l'appareil de mesure impose un courant constant et évalue la variation de tension.

Les mesures de conductivité électrique sont réalisées à température ambiante à l'aide d'un conductimètre. Les résultats sont exprimés en S/m (siemens par mètre). En pratique, les unités usitées sont les sous-multiples $\mu\text{S}/\text{cm}$ et mS/cm .

3.2. Les caractéristiques chromatiques

3.2.1. Détermination des caractéristiques chromatiques par la méthode usuelle

Méthode dérivée de la méthode OIV-MA-AS2-07B (Annexe 8).

On appelle caractéristiques chromatiques d'un vin sa luminosité et sa chromaticité. La luminosité correspond à la transmittance. Elle varie en ordre inverse de l'intensité colorante des vins. La chromaticité correspond à la longueur d'onde dominante (qui caractérise la nuance) et à la pureté.

La couleur du vin est l'un des éléments visuels les plus importants dont nous disposons, en ce qu'elle nous apporte une multitude d'informations de grande pertinence. Le vin absorbe une partie seulement des radiations lumineuses qu'il reçoit et en réfléchit une autre partie, laquelle parvient jusqu'à l'œil de l'observateur, lui procurant une sensation de couleur.

La méthode utilisée est une méthode spectrophotométrique selon laquelle les caractéristiques chromatiques sont exprimées conventionnellement comme ci-dessous :

- L'intensité colorante (IC) est donnée par la somme des absorbances sous 1 cm de trajet optique pour les radiations de longueurs d'onde égales à 420, 520 et 620 nm.
- La nuance est exprimée par le rapport de l'absorbance à 420 nm à l'absorbance à 520 nm.

Le spectrophotomètre permet des mesures entre 190 et 1100 nm avec des cuves disponibles par paires, de trajet optique, égal à 0,1 - 0,2 - 0,5 et 1 cm. Les vins blancs n'ont pas de spectre caractéristique mais seulement une diminution régulière de l'absorbance de 340 à 700 nm.

La mode opératoire : Le trajet optique de la cuve de mesure doit être choisi de telle manière que l'absorbance soit comprise entre 0,3 et 0,7. Les mesures spectrophotométriques sont effectuées en utilisant comme un liquide de référence l'eau distillée placée dans une cuve de même trajet optique afin de régler le zéro de l'échelle des absorbances de l'appareil aux longueurs d'onde 420, 520 et 620 nm.

Les calculs : Les absorbances ont été calculées pour 1 cm de trajet optique pour les 3 longueurs d'onde, les absorbances relevées, soit A_{420} , A_{520} , A_{620} .

L'intensité colorante est conventionnellement donnée par : $IC = A_{420} + A_{520} + A_{620}$

La nuance est conventionnellement donnée par : $N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$

3.2.2. Détermination des caractéristiques chromatiques par la méthode de référence (CIELab)

Méthode dérivée de la méthode OIV-MA-AS2-11 (Annexe 9).

Principe de la méthode : la couleur d'un vin peut être définie par trois attributs ou qualités spécifiques de la sensation visuelle : sa teinte, sa luminosité (ou luminance) et son chromatisme. La teinte, la plus caractéristique, désigne la couleur en soi : rouge, jaune, vert ou bleu. La luminosité est l'attribut de la sensation visuelle selon laquelle un vin paraît plus ou moins lumineux. Le chromatisme ou niveau de coloration, pour sa part, est lié à l'intensité plus ou moins forte de la couleur du vin. La conjugaison de ces trois concepts permet d'identifier les multiples nuances de couleur des vins.

La Commission Internationale de l'Eclairage a défini une méthode colorimétrique directement applicable aux vins. Ce modèle chromatique décrit l'ensemble des couleurs visibles par l'œil humain. La couleur est caractérisée, sous la forme de coordonnées, dans un espace de couleur prédéfini.

Les caractéristiques chromatiques d'un vin sont définies par les coordonnées colorimétriques ou de chromacité correspondant à la clarté (L^*), à la composante de couleur rouge/vert (a^*), à la composante de couleur jaune/bleu (b^*). La coordonnée L^* désigne la clarté ($L^* = 0$ noir et $L^* = 100$ incolore), a^* désigne la composante de couleur rouge/vert ($a^* > 0$ rouge, $a^* < 0$ vert) et b^* la composante de couleur jaune/bleu ($b^* > 0$ jaune, $b^* < 0$ bleu).

Le protocole utilisé :

- Une paire de cuves est sélectionnée pour réaliser la lecture spectrophotométrique en veillant à ne pas dépasser la valeur maximale de mesure dans les limites de linéarité du spectrophotomètre. À titre indicatif, il est conseillé d'utiliser pour les vins blancs et rosés des cuves de 10 mm de trajet optique et de 1 mm pour les vins rouges.

- Après prélèvement et préparation de l'échantillon, une mesure de transmittance est réalisée entre 380 et 780 nm tous les 5 nm, en utilisant comme liquide de référence de l'eau distillée placée dans une cuve de même trajet optique de manière à régler la ligne de base ou le blanc. L'illuminant D65 et un observateur à 10° ont été choisis.

Si le trajet optique de la cuve de lecture est inférieur à 10 mm, il convient alors de transformer la transmittance à 10 mm avant de procéder au calcul de : L^* , a^* , b^* , C^* et H^* .

Le spectrophotomètre (UV-Visible (UV-1800, Shimadzu)) permet d'effectuer des mesures avec une longueur d'onde de transmittance comprise entre 300 et 800 nm, avec un illuminant D65 et un observateur à 10°. Les appareils utilisés ont une résolution égale ou supérieure à 5 nm, si possible et sont à balayage.

Les cuves (disponibles par paires) ont un trajet optique de 1, 2 et 10 mm et les micropipettes permettant de prélever les volumes souhaités sont de capacités comprises entre 0,020 et 2 mL.

Résumé (Annexe 9) :

Mesures spectrales à des transmittances entre 780 et 380 nm
Intervalle : 5 nm
Récipients : en fonction de l'intensité du vin. 1 cm (vins blancs et rosés), 0,1 cm (vins rouges)
Illuminant D65
Observateur standard à 10°

4. Méthodes d'étude des protéines

4.1. Dosage colorimétrique et spectrophotométrique

Principe de la méthode : la concentration en protéines dans les vins est déterminée suivant une gamme étalon d'Albumine de Sérum Bovin (ASB). La lecture d'absorbance est réalisée par spectrophotométrie à 595 nm. L'absorbance étant proportionnelle à la concentration en protéines, celle-ci est calculée grâce à la gamme étalon réalisée.

La méthode actuellement la plus utilisée pour doser les protéines dans les vins en œnologie est la méthode de Bradford, publiée en 1976 (Bradford, 1976) et appliquée en œnologie depuis 1986. Le dosage de Bradford permet de déterminer la concentration en protéines totales d'un

échantillon. Ce dosage utilise le colorant Bleu Brillant de Coomassie (BBC), qui est capable de se lier aux protéines. La coloration est proportionnelle à la quantité en protéines et par comparaison à une gamme étalon d'ASB variant de 0 à 20 mg/L, il est possible d'en déduire la quantité de protéines totales dans un vin donné.

Les protéines solubles sont estimées par dosage direct à partir d'un échantillon de vin filtré stérilement (0,45 μ m). Le BBC est capable d'établir des interactions et des liaisons avec les protéines, mais aussi avec d'autres composés dont l'éthanol, les composés phénoliques et les peptides. Il est donc nécessaire pour un vin de corriger le dosage direct en estimant, après ultrafiltration sur membrane de seuil de coupure 3 kDa, l'interférence globale des composés non protéiques (Marchal *et al.*, 1997). Cette interférence est ensuite soustraite à la valeur obtenue sur vin.

La méthode consiste à ajouter aux 400 μ L de vin à doser (ASB, échantillons et ultrafiltrats), 400 μ L d'eau ultrapure, puis 200 μ L de réactif de Bradford (Bio-Rad, France). Après un temps d'incubation variant de 5 à 10 minutes, la lecture des valeurs des absorbances de la gamme d'ASB est effectuée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (UV-1800, Shimadzu). La mesure des absorbances des échantillons de vins et des ultrafiltrats est également réalisée à 595 nm, mais le temps d'incubation est de 45 à 50 minutes. Les dosages sont réalisés en triplicata.

4.2. Quantification des protéines par électrophorèse monodimensionnelle en conditions dénaturantes (SDS-PAGE, coloration au nitrate d'argent) et densitométrie

Le principe de l'électrophorèse est de séparer les protéines sur gel d'acrylamide selon leur masse moléculaire (Laemmli, 1970). Les protéines sont dénaturées en présence d'un détergent anionique, le SDS. Les protéines étant entourées de SDS, la charge du polypeptide est alors insignifiante comparée à la charge négative du détergent, ainsi seule la masse moléculaire intervient lors de la migration.

Le protocole : les profils protéiques des échantillons sont analysés au moyen du système Mini-Protean II[®] (Bio-Rad, France) en conditions dénaturantes SDS-PAGE (13% en acrylamide/bisacrylamide) suivant la méthode de Laemmli (1970). La composition des gels (1 mm d'épaisseur) est la suivante :

- Gel de concentration : le gel de concentration est obtenu en mélangeant 1,22 mL d'eau ultrapure, 0,26 mL de solution mère d'acrylamide/bisacrylamide à 30% (Bio-Rad, France) et 0,5 mL de tampon Tris-HCl 0,5M, pH = 6,8, et 20 μ L Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) à 10%. La polymérisation est réalisée en ajoutant au milieu 10 μ L de persulfate d'ammonium (APS) à 10% et 2 μ L de TEMED (N, N, N', N'-tétraméthyl-1-, 2-diaminométhane).

- Gel de séparation : le gel de séparation est obtenu en mélangeant 1,55 mL d'eau ultrapure, 2,15 mL de solution mère d'acrylamide/bisacrylamide à 30% (Bio-Rad, France) et 1,25 mL de tampon Tris-HCl 1,5M, pH = 8,8, et 0,05 µL Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) à 10%. La polymérisation est réalisée en ajoutant au milieu 25 µL de persulfate d'ammonium (APS) à 10% et 5µL de TEMED (N, N, N', N'-tétraméthyl-1-,2-diaminométhane).

Les échantillons et le marqueur de masses moléculaires (1 par gel) sont déposés dans les puits (un peigne de 10 puits de 1 mm). La migration s'effectue dans un tampon Tris 25 mM, Glycine 192 mM avec 0,1% de SDS (p/v), sous un voltage de 150 V pendant 1h à 1h30.

Après la migration, les différentes bandes protéiques peuvent être directement observées par coloration au nitrate d'argent des protéines dans le gel (Neuhoff *et al.*, 1985). Toutes les protéines sont colorées et l'intensité des bandes dépend de leur concentration.

La détermination des masses moléculaires des protéines séparées par SDS-PAGE se fait par rapport à un marqueur de taille "Prestained marker" (Bio-Rad, France).

La masse moléculaire de chaque bande protéique a été attribuée à l'aide du logiciel « Quantity One[®] ».

- L'intensité de chaque bande protéique (% par rapport à S1) a été calculée en faisant la moyenne des valeurs de 3 gels SDS-PAGE et ce à l'aide des logiciels « Image Lab[®] » et Excel 2016.

- L'intensité des protéines totales (% par rapport à S1) a été calculée par la somme des intensités des bandes protéiques individuelles à l'aide des logiciels « Image Lab[®] » et Excel 2016.

4.3. Protéomique

4.3.1. Electrophorèse SDS-PAGE (coloration Blue silver)

Le principe de cette méthode est le même que celui de la méthode SDS-PAGE avec une coloration au nitrate d'argent. La différence provient de l'étape de coloration. Après la migration des gels, une coloration au bleu de Coomassie (Candiano *et al.*, 2004) a été réalisée afin d'observer les différentes bandes protéiques.

4.3.2. Identification des protéines par spectrométrie de masse (LC- MS/MS)

L'analyse protéomique permettant d'identifier les protéines dans les moûts et vins de Champagne se décompose en plusieurs étapes présentées dans les Figure 20 et 21. Les protéines sont concentrées, avant d'être séparées par la méthode d'électrophorèse et par chromatographie liquide. Durant cette dernière étape, les protéines sont hydrolysées, c'est-à-dire découpées en fragments peptidiques. Dans un second temps, les peptides ainsi libérés vont être analysés par spectrométrie de masse (SM) afin de déterminer leur masse avec une très grande précision, ou par la spectrométrie de masse en tandem (SM/SM), présentée sur la Figure 21 pour obtenir des informations sur leur composition en acides aminés. Enfin, les résultats de ces analyses de spectrométrie de masse vont pouvoir être analysés et confrontés à des informations contenues dans des banques de données de protéines, afin d'identifier la ou les protéine(s) isolées.

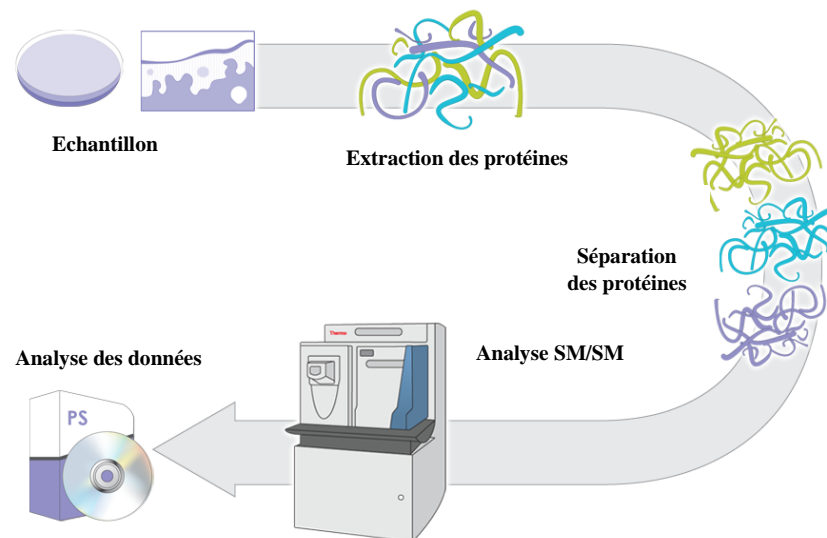


Figure 20. Illustration de la démarche d'une analyse protéomique
(Image à partir de <http://planetorbitrap.com>)

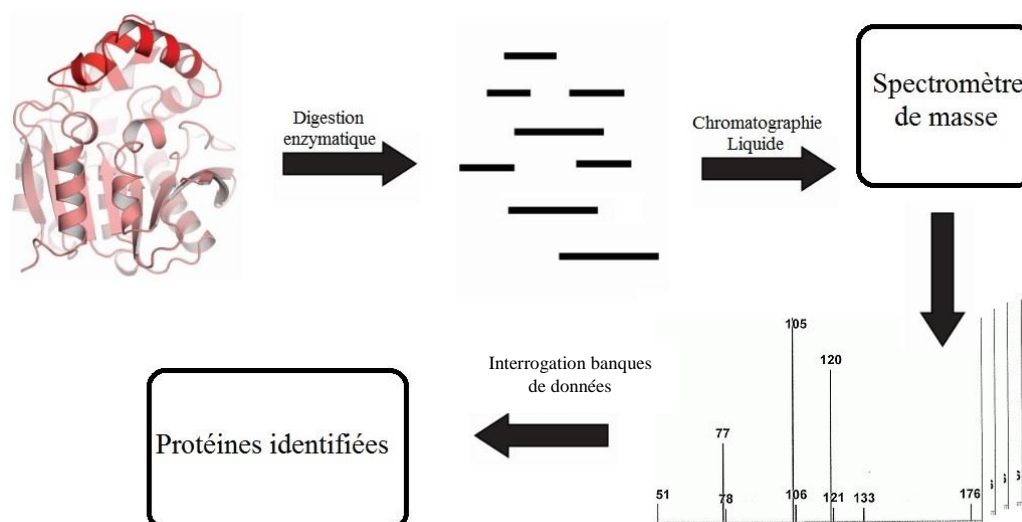


Figure 21. Principales étapes de l'analyse protéomique par électrophorèse et spectrométrie de masse

(Image à partir de <http://planetorbitrap.com>)

Extraction et séparation des protéines

La première étape consiste à extraire et isoler les protéines : les moûts et vins ont été concentrés 30 fois par ultrafiltration (UF) sans dialyse sur une membrane de seuil de coupure de 10 kDa (MWCO 10kDa).

La seconde étape permet de séparer les protéines en fonction de leur masse moléculaire : les solutions concentrées de moûts et vins ont été analysées par la méthode d'électrophorèse SDS-PAGE avec une coloration au bleu de Coomassie permettant de ne pas générer d'interférences avec l'analyse protéomique en spectrométrie de masse. Chaque bande correspondant à une protéine d'un échantillon a été découpée dans le gel et analysée par LC- MS/MS.

Le système de chromatographie utilisé : système Ultimate 3000TM nano RSLC avec NCS-3500 RS et WPS-3000 TPLRS, permet de séparer les protéines selon la différence d'affinité de ces protéines entre une phase mobile (mélange entre un solvant aqueux : H₂O avec 0,1% d'acide formique (v/v), et organique : acétonitrile avec 0,1% d'acide formique (v/v) et une phase stationnaire (silice poreuse greffée en C18), et est couplé à un spectromètre de masse.

Le module nano-UHPLC compact et modulaire comprend dans un même système une pompe d'analyse nano-U-HPLC, une pompe auxiliaire micro-HPLC à gradient ternaire permettant d'effectuer les phases de chargement/dessalage d'échantillons et une enceinte thermostatée comprenant des emplacements motorisés pour 2 micro-vannes d'automatisation.

Nano-pompe UHPLC :

Il s'agit d'une pompe à gradient haute pression à pompage direct (sans split) constituée de pompes à double pistons sur chacune des 2 voies de solvants. Un schéma fluide optimisé et des algorithmes de régulation permettent une précision et une régularité des débits depuis 20 nL/mn jusqu'à 50 µL/mn, ceci même dans le cas de changement brutaux de pression de travail pouvant résulter de gradient rapides ou de bouchages partiels de colonnes. Cette pompe très haute pression (800 Bar) présente un retard de gradient minimal (25 nL).

Micro pompe :

Le système est également doté d'une pompe à gradient ternaire permettant des débits de travail depuis 10 µL/mn jusqu'à 2,5 mL/mn. Cette pompe permet de charger et dessaler les échantillons sur des cartouches de concentrations avant leur analyse en dimension nano-HPLC.

Le système NCS3500RS :

Le système de pompage direct à très faible retard gradient (25 nL) et très haute pression (jusqu'à 800 bar). Les colonnes de phases très haute résolution (de faible granulométrie de particules (2 µm) ou monolithiques) et de grande longueur peuvent ainsi être exploitées avec une efficacité et une facilité de mise en œuvre sans égales.

HPG nano pompe : gradients de 20 nL/mn à 50 µL/mn en utilisant des sélecteurs de débits précalibrés (4 zones : sub-nano (20 à 100 nL/mn), nano (100 à 1000 nL/mn), cap (1 à 10 µL/mn) et micro-HPLC (10 à 50 µL/mn)),

Gamme de Pression : jusqu'à 800 bars (11600 psi) sur la totalité de la gamme de débit,

LPG micro pompe : débits de 10 à 2500 µL/mn ; pression jusqu'à 500 bar,

Précision du gradient : < 0,1% SD,

Stabilité temps de rétention : < 0,2% RSD ou < 0,1 mn SD en gradient à 300 nL/mn,

Retards gradients : < 25 nL (nano pompe),

< 350 nL (système en préconcentration sur vanne).

L'étape d'hydrolyse des protéines permet de rompre des liaisons peptidiques dans une protéine, et ainsi d'obtenir des fragments plus petits : des peptides. Les protéines ont subi une digestion par la trypsine (Trypsin Sequencing Grade, Roche Applied Science) qui produit de nombreux peptides de taille exploitable pour la plupart des protéines généralement analysées. La trypsine coupe les liaisons peptidiques qui suivent les lysines et les arginines, sauf si elles sont immédiatement suivies d'une proline.

Le protocole utilisé est le suivant :

1. 60-80 μg de protéine (poudre)
2. Ajouter 20 μL de tampon NH_4HCO_3 , 50 mM, pH 8
3. Ajouter 5 μL de DTT 4 mM (Dithiothreitol, agent réducteur)
4. Incuber 15 min à 50°C
5. Remettre l'échantillon à température ambiante avant d'ajouter 5 μL d'IAA (Iodoacétamide, agent alkylant), 100 mM
6. Incuber 15 min à température ambiante dans le noir.
7. Ajouter la trypsine 3% masse/masse (soit 3 μg de trypsine pour 100 μg de protéine)
8. Incuber 24h à 37°C

Identification par spectrométrie de masse : l'identification des protéines a été réalisée à l'aide du système SM/SM (Système LTQ-Orbitrap XLTM) ; celle-ci repose sur une mesure précise de la masse des peptides ionisés. Dans ce cas, certains fragments peptidiques analysés lors d'une première étape de SM sont choisis et fragmentés. Les pics de masse obtenus constituent une représentation de la séquence protéique, dans laquelle deux pics adjacents diffèrent par la masse d'un acide aminé perdu lors de la fragmentation du peptide analysé. Les conditions opératoires sont les suivantes :

Sensibilité et limite de détection : il est possible d'identifier de l'ordre de 100 attomoles de protéines digérées par la trypsine.

Gamme de masse : l'Orbitrap XLTM varie dans une gamme de masse : 15 à 4000 m/z (15-200 m/z, 50-2 000 m/z, et 100-4 000 m/z).

Interrogation des bases de données : la dernière étape est l'interrogation des bases de données. Les différentes informations récoltées sur les protéines (masse apparente, masse réelle, point isoélectrique, taille des fragments après digestion enzymatique, séquences partielles) sont comparées aux bases de données UniProtKB/Swiss-Prot Release 2014_05 du 14 mai 2014 (542 258 entrées), NCBIInr (20 883 891 séquences), taxonomies : *viridiplantae* (877 113 séquences) et *fungi* (872 154 séquences). Les moteurs de recherche Proteome Discoverer 1.4 (Thermo Scientific) et Mascot 2.4 (Matrix Science) fournissent alors une liste de protéines et leurs probabilités associées.

Résumé :

Moûts ou vins : UF x30 (MWCO 10 kDa)



SDS-PAGE, coloration BBC

Excision des bandes + digestion trypsique



LC-MS/MS

4.4. Détermination de l'activité protéasique spécifique des vins

L'activité protéasique des vins sains et botrytisés a été quantifiée par densitométrie en suivant la dégradation de l'Albumine de Sérum Bovin (ASB).

L'ASB est utilisée comme nutriment dans les cultures de cellules eucaryotes et microbiennes et sert également à la stabilisation de certaines enzymes de restriction pendant la digestion de l'ADN et évite l'adhésion de l'enzyme aux matériels de laboratoire. Elle a l'avantage de ne pas interférer avec les autres protéines, qui ne nécessitent pas sa présence.

Protocole : Pour un volume réactionnel de 500 μL , 25 μL de solution mère d'ASB sont mis dans un Eppendorf, puis 375 μL de tampon citrate-phosphate à 0,1M pH=3,5 sont ajoutés. 100 μL de solution à tester sont finalement additionnés au milieu réactionnel et celui-ci est mis au bain marie à 37°C.

Des prélèvements de 50 μL de milieu réactionnel sont réalisés toutes les 10 minutes pendant 7,5h pour les vins sains et toutes les 0,5 minute pendant 7 minutes pour les vins botrytisés. 50 μL du tampon glycine-NaOH 0,1M à pH = 10 sont ajoutés aux différents prélèvements pour arrêter la réaction enzymatique.

Attention : Le témoin de la réaction correspond au $t = 0$

Une électrophorèse SDS-PAGE est réalisée à partir des prélèvements réalisés et l'intensité de la bande d'ASB est mesurée au cours du temps. L'activité protéasique brute et spécifique est ensuite calculée :

Activité protéasique brute = $\mu\text{mole d'ASB dégradée/minute}$

Activité protéasique spécifique = $\text{Activité protéasique brute/quantité de protéines totales du vin (déterminée par la méthode de Bradford)}$.

4.5. Analyse des acides aminés dans les fractions des PS et OS des vins

La composition en acides aminés dans les fractions des PS et OS des vins a été déterminée après hydrolyse par le HCl 6M à 110°C pendant 24h sous N₂ par chromatographie d'échange cationique sur une résine au lithium Ultropac-8 (200 x 4,6 mm) dans du tampon citrate de lithium 0,2M à pH = 2,2 comme un éluant, en utilisant une dérivation post-colonne avec un réactif de type ninhydrine et une détection spectrophotométrique à 570 nm et 440 nm pour les résidus proline et hydroxyproline. La norleucine a été utilisée comme étalon interne.

Le dosage s'effectue sur Biochrom 30 type HPLC (Manuel de BIOCHROM 30, Royaume-Uni). Les acides aminés en milieu acide sont fixés sur une colonne échangeuse de cations (résine anionique Ultrapac-8 Lithium-form). Leur séparation est réalisée à l'aide d'un gradient de température (de 32°C à 75°C), de pH (de pH 2,8 à pH 3,55) et de concentration en contre ions (citrate de lithium de 200 mM à 1650 mM) grâce à l'utilisation successive de plusieurs tampons de citrate de lithium. La colonne est ensuite régénérée à 75°C avec un tampon d'hydroxyde de lithium à 300 mM. La détection des acides aminés est réalisée par spectrométrie ultraviolet-visible grâce à la dérivation, en sortie de colonne, des acides aminés avec de la ninhydrine qui forme un composé pourpre qui absorbe à 570 nm et dont la quantité formée est proportionnelle à la concentration en acide aminé. La proline et l'hydroxyproline qui ne possèdent pas une fonction amine mais une fonction imine forment un composé jaune détectable à 440 nm. Les spectres obtenus sont analysés avec le logiciel Biochrom 30.

Pour la quantification, un standard physiologique est utilisé. Ce standard contient un volume d'acides aminés acides et neutres (A6407, Sigma-Aldrich, France) un volume d'acides aminés basiques (A1585, Sigma-Aldrich, France), un volume de glutamine à 2500 nmol/mL et deux volumes de tampon de charge. Le standard est ensuite traité comme décrit ci-dessus.

5. Isolement et analyse des polysaccharides (PS) et oligosaccharides (OS) dans les vins

5.1. Isolement et fractionnement des PS et OS

Les vins de base (5 mL) ont été partiellement décolorés sur une colonne de polyamide CC6. Les polysaccharides (PS) et les oligosaccharides (OS) non retenus sur la colonne ont été élués par une solution de NaCl 1M tandis que les polyphénols ont été retenus sur la colonne. Une chromatographie par tamisage moléculaire (colonne Superdex 30) a ensuite été réalisée sur la fraction non retenue. La séparation et l'éluion des PS et des OS ont été réalisées à 1 mL/min par un tampon formiate d'ammonium 30 mM pH 5,8 et suivie par un détecteur par indice de réfraction. Les

fractions PS et OS sont collectées selon leur temps d'éluion respectif ; pour les vins sains et botrytisés Chardonnay 2014, des fractions ont été collectées entre 38-53 minutes (PS) et entre 54-90 minutes (OS), tandis que celles des vins de Pinot meunier 2013 sont collectées entre 41-65 minutes (PS) et entre 66-93 minutes (OS). Les différentes fractions PS et OS collectées pour chaque vin de base ont été solubilisées dans l'eau et lyophilisées quatre fois afin d'éliminer au maximum le sel d'ammonium et d'éviter toute interférence avec les analyses de composition et de quantification ultérieures. Pour chaque échantillon, plusieurs purifications des PS et OS ont été réalisées afin de vérifier la répétabilité des analyses.

5.2. Caractérisation et dosage des oses des PS par la méthode des acétates d'alditols

Principe de la méthode : Les oses neutres constitutifs des PS sont libérés après l'hydrolyse des PS par l'acide trifluoroacétique (Albersheim *et al.*, 1967). Les oses ainsi libérés sont rendus volatiles par leur transformation en acétates d'alditols. Cette transformation comprend la réduction de l'aldose libéré par hydrolyse en alditol correspondant puis l'acétylation de la fonction hydroxyle de ce dernier (Doco *et al.*, 1999).

La transformation des oses neutres en acétates d'alditols, par exemple dans le cas du galactose, est présente sur la Figure 22.

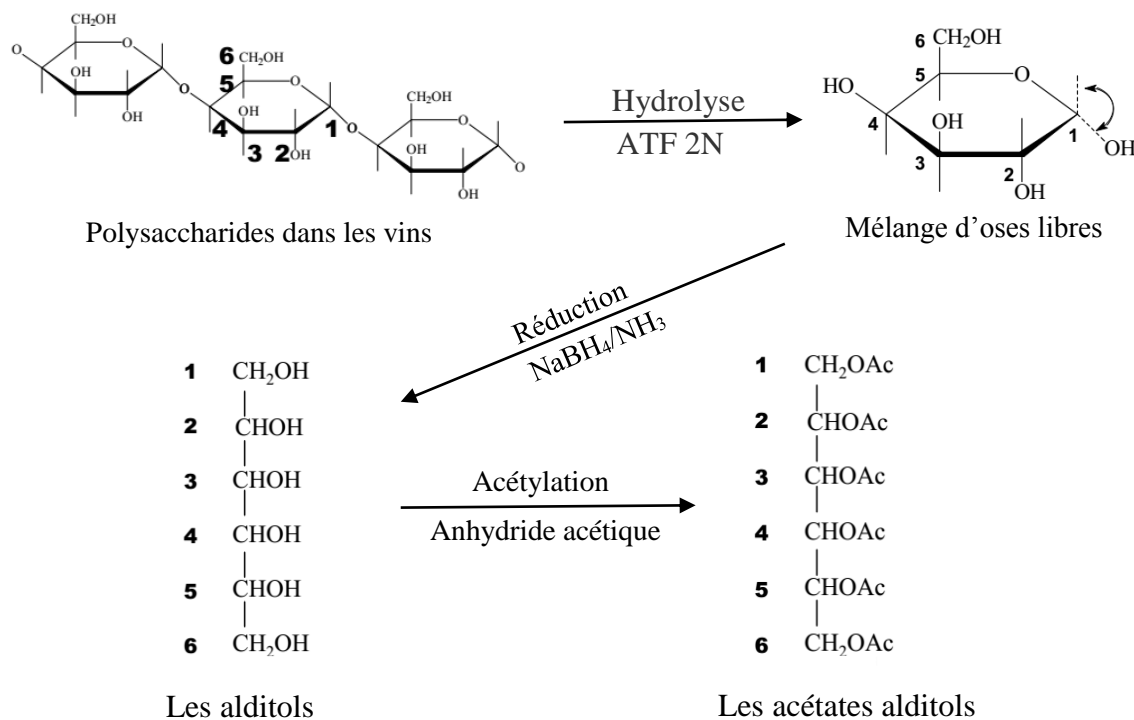


Figure 22. Exemple de la séquence chimique de la transformation des oses neutres en acétates d'alditols (cas du galactose)

L'hydrolyse : Les liaisons glycosidiques des PS sont rompues par hydrolyse acide permettant la libération des oses constitutifs.

La réduction : Les fonctions aldéhydes des oses sont réduites par le borohydrure de sodium en milieu basique. En milieu alcalin, les résidus sont en équilibre entre la forme aldéhyde, la forme énol et la forme cétone ce qui facilite la réduction. Il y a ouverture du cycle hémiacétal et formation d'un polyol correspondant au résidu glycosidique.

L'acétylation : Les fonctions alcools sont estérifiées par des groupements acétyls en milieu H^+ en présence d'anhydride acétique.

Le protocole d'extraction et de dosage des oses neutres des PS dans les vins est présenté dans la Figure 23.

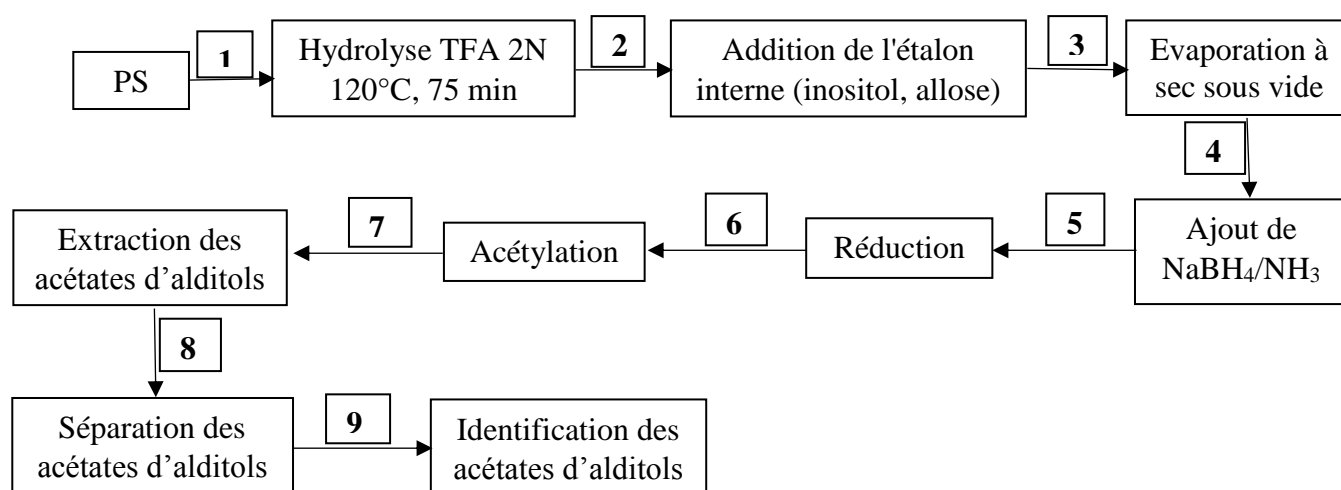


Figure 23. Protocole d'extraction et de dosage des oses neutres des PS du vin

Remarques sur les principales étapes du schéma de la Figure 23 :

Etape 1 : Les oses neutres constitutifs des PS dans les vins sont libérés après hydrolyse des PS par l'acide trifluoroacétique (ATF) 2N (75 minutes à 120°C).

Etape 2 : Des étalons internes : 100 μ L d'une solution d'inositol à 1 mg/mL et 100 μ L d'une solution d'allose à 1 mg/mL ont été ajoutés au milieu. La quantité d'étalon interne doit être adaptée aux quantités d'oses à doser.

Etapes 3, 4, 5 : Les fonctions aldéhydiques des oses sont réduites pendant 1 heure à 60°C par addition de 500 μ L de borohydrure de sodium dans NH_3 .

Etape 6 : 500 μ L d'acétone sont ajoutés pour arrêter la réaction. Une acétylation est ensuite réalisée par addition de 500 μ L d'acétate d'éthyle, de 1,5 mL d'anhydride acétique puis de 50 μ L d'acide perchlorique à 70%.

Etape 7 : L'excès d'anhydride acétique est éliminé par 5 mL d'eau en présence de 50 µL de 1-méthylimidazole. Après obtention d'une phase homogène, les acétates d'alditols sont extraits par 0,5 mL de chloroforme.

Etapes 8, 9 : Les acétates d'alditols sont séparés sur une colonne capillaire en silice fondue (30 m x 0,32 mm), portant une phase OV-225 greffée (e = 0,25 µm) (DB-225). Appareil de chromatographie gazeuse Shimadzu GC-2010plus. Les conditions opératoires sont les suivantes :

Injection en mode split (fuite 30 mL/min), gaz vecteur hydrogène (65 kPa)

Température de l'injecteur et du détecteur : 250°C

Température de la colonne : 210°C

L'allose et l'inositol sont des étalons internes afin de calculer la quantité de chaque ose. Le dosage des oses neutres des pectines par les méthodes colorimétriques, donne une réponse qui peut sous-estimer ou surestimer la teneur réelle en raison d'une réponse variable en fonction des oses. Les résultats sont exprimés en anhydromoles et sont donc corrigés par un facteur de polymérisation de 0,9 pour les hexoses, de 0,88 pour les pentoses et de 0,89 pour les méthylpentoses (Thibaul *et al.*, 1991).

Les résultats sont donnés dans un tableau en concentration exprimée en µg/mL, % en poids et % molaire.

$$\begin{aligned} \text{Concentration} &\longrightarrow \frac{\text{Aire de l'ose} * \text{masse de l'étalon interne} * \text{facteur de polymérisation}}{\text{Aire de l'étalon interne} * \text{coefficient}} \\ \text{\% poids} &\longrightarrow \frac{\text{Concentration en } \mu\text{g/mL} * 100}{\text{Masse pesée } \mu\text{g}} \\ \text{\% Molaire} &\longrightarrow \frac{\text{Aire de l'ose} * \text{masse de l'étalon interne}}{\text{Aire de l'étalon interne} * \text{masse molaire ose} * \text{total molaire}} \end{aligned}$$

5.3. Caractérisation et dosage des oses des OS par la méthode de triméthylsilylation

Principe de la méthode : Les OS sont méthanolysés en milieu totalement anhydre. Un groupement o-méthyl apporté par le méthanol a été fixé par la substitution nucléophile au niveau du carbocation puis les oses libérés sont rendus volatils par triméthylsilylation des hydroxyles et extraits par l'hexane (Figure 24) (Guadalupe *et al.*, 2014; Quijada Morín *et al.*, 2014). Les oses neutres et acides des OS du vin sont déterminés et quantifiés par analyse en chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse (GC-SM) ; l'inositol est l'étalon interne.

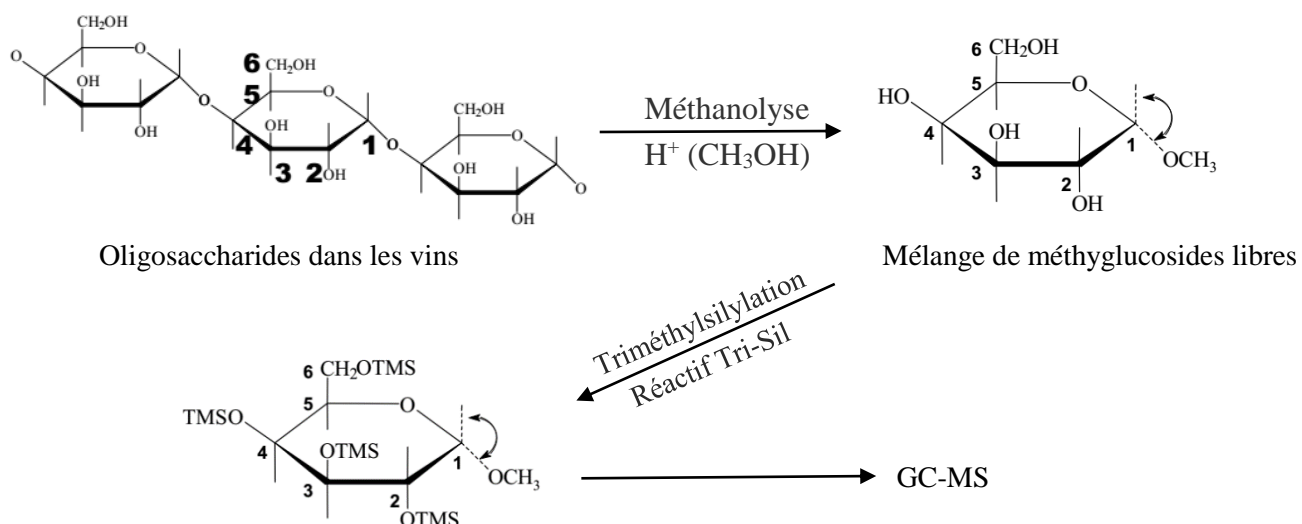


Figure 24. Exemple de la séquence chimique pour la quantification des oses par méthanolyse et tri-méthyl-silylation (cas du galactose)

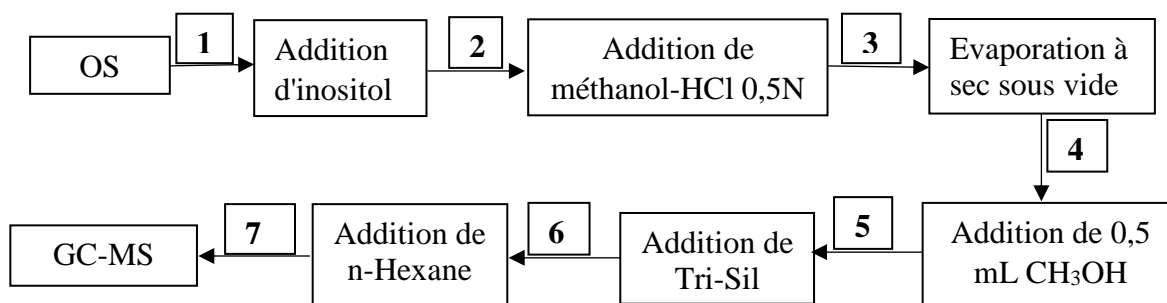


Figure 25. Protocole d'extraction et de dosage des oses des OS du vin

Tri-Sil : Triméthylsilyl N-triméthylsilylacétamidate

Remarques sur les principales étapes du schéma de la Figure 25 :

Méthanolyses :

Etape 1 : Les OS des vins sont méthanolysés dans un tube à hydrolyse pendant une nuit. L'étalon interne (50 μ L d'une solution d'inositol à 1 mg/mL) et 0,5 mL d'eau a été ajouté au milieu.

Etape 2 : 0,5 mL de méthanol-HCl 0,5N sont ajoutés dans le tube placé ensuite à 80°C pendant 16 h.

Etape 3 : Le tube est séché à sec sous air à 40°C afin d'évaporer le méthanol-HCl.

Etape 4 : L'HCl est éliminé en ajoutant 0,5 mL de méthanol.

Triméthylsilylation :

Etape 5 : La triméthylsilylation a été réalisée par une addition de pyridine, triméthylsilyl N-triméthylsilylacétamidate (Tri-Sil). Le tube est placé pendant 20 minutes à 80°C puis séché à 40°C.

Etape 6 : 0,5 mL de n-hexane est ajouté dans le tube afin d'extraire les dérivés triméthylsilyls.

Etape 7 : Les dérivés triméthylsilyls sont analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectrophotomètre de masse (GC-SM) Shimadzu, modèle QP2010SE avec une colonne capillaire DB-1 (30 m x 0,25 mm). L'hydrogène est utilisé comme gaz vecteur. La température de l'injecteur a été fixée à 280°C et celle du détecteur à 290°C.

La sortie de la première colonne a été directement connectée à un détecteur à ionisation de flamme (FID) à 250°C et la deuxième colonne a été connectée à un détecteur de masse par une colonne de silice fondue (0,25 m x 0,11 μ m). L'inositol est l'étalon interne afin de déterminer et de quantifier chaque ose neutre et ose acide d'un oligosaccharide.

6. Analyse statistique

Dans ce travail, les coefficients de corrélation de Pearson entre les paramètres œnologiques des moûts et des vins ont été confirmés à l'aide du logiciel Excel 2016.

Le coefficient de corrélation de Pearson est un indice statistique qui exprime l'intensité et le sens (positif ou négatif) de la relation linéaire entre deux variables quantitatives. C'est une mesure de la liaison linéaire, c'est-à-dire de la capacité de prédire une variable x par une autre y à l'aide d'un modèle linéaire. Il permet de mesurer l'intensité de la liaison entre deux caractères quantitatifs. C'est donc un paramètre important dans l'analyse des régressions linéaires (simples ou multiples). En revanche, ce coefficient est nul ($r = 0$) lorsqu'il n'y a pas de relation linéaire entre les variables (ce qui n'exclut pas l'existence d'une relation autre que linéaire). Par ailleurs, le coefficient est de signe positif si la relation est positive (directe, croissante) et de signe négatif si la relation est négative (inverse, décroissante).

Ce coefficient varie entre -1 et +1 ; l'intensité de la relation linéaire sera donc d'autant plus forte que la valeur du coefficient est proche de +1 ou de - 1, et d'autant plus faible qu'elle est proche de 0.

CHAPITRE III

**IMPACT DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE
SUR LA COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS
DE PINOT MEUNIER 2013**

Ce chapitre présente l'effet du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts et des vins de base de Pinot meunier du millésime 2013 (avec presseur industriel). L'étude présente les changements de composition des moûts et des vins observés tout au long du pressurage des raisins et les corrélations entre les différents paramètres œnologiques des moûts et des vins. L'étude de la composition en protéines et leur identification ainsi que la caractérisation des polysaccharides (PS) et des oligosaccharides (OS) des vins de base a été réalisée afin de mettre en évidence leurs changements au cours du fractionnement au pressurage.

1. Les moûts de Pinot meunier de la vendange 2013

1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts

La composition des moûts de Pinot meunier 2013 est présentée dans le Tableau 3.

Tableau 3. Composition des moûts durant le pressurage des raisins Pinot meunier 2013
AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	pH	Sucres (g/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Acide gluconique (mg/L)
AP _f	8,9	3,03	147,6	9,9	5,9	1016	148	152
S1	10,3	2,98	143,5	11	8,5	1574	75	79
S2	9,1	2,99	145,0	9,7	7,6	1560	82	61
S3	8,1	3,11	142,7	9,2	7,4	1668	82	63
S4	7,4	3,22	140,4	8,9	5,9	1620	91	65
S5	6,7	3,34	139,1	9,1	4	1784	108	72

Nos résultats montrent qu'excepté l'AP_f (3,03), le pH augmente du moût S1 (2,98) au moût S5 (3,34). Contrairement au pH, la concentration en acides diminue durant le pressurage : l'acidité totale diminue de 35%, la concentration en acide malique et en acide tartrique diminue respectivement de 17% et de 53% dans le moût à la fin du pressurage par rapport au moût au début du pressurage.

L'acide gluconique est détecté dans tous les moûts au cours du pressurage. Sa valeur est la plus élevée dans le moût AP_f (152 mg/L), ensuite elle est stable dans la gamme de 61 à 79 mg/L dans les moûts de S1 à S5.

La concentration en sucres diminue un peu au cours du pressurage ; elle est la plus élevée dans le moût AP_f (147,6 g/L) et est la plus faible dans le moût S5 (139,1 g/L).

Nos résultats montrent que la concentration en potassium est la plus faible dans le moût AP_f, tandis que celle en calcium est la plus élevée dans ce même moût. Au cours du pressurage, du moût S1 au moût S5, la concentration en potassium et en calcium augmente respectivement de 13% et de 44%.

1.2. Corrélations entre les caractéristiques des moûts

Le Tableau 4 présente les coefficients de corrélation (R^2) déterminés entre les caractéristiques des moûts au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013.

Tableau 4. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acide gluconique (mg/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Sucres (g/L)
pH	1							
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,893 ^b	1						
Acide malique (g/L)	0,544	0,836	1					
Acide tartrique (g/L)	0,933 ^a	0,848	0,502	1				
Acide gluconique (mg/L)	0	0,106	0,447	9E-4	1			
Potassium (mg/L)	0,776	0,652	0,307	0,726	0,015	1		
Calcium (mg/L)	0,885 ^b	0,790	0,438	0,988 ^a	0	0,752	1	
Sucres (g/L)	0,929 ^a	0,705	0,341	0,800	0,044	0,674	0,740	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

D'après les résultats obtenus, excepté la relation évidente entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,893$), nous pouvons voir que le pH est fortement corrélé avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,933$) et également en sucres et en calcium (respectivement $R^2 = 0,929$ et $R^2 = 0,885$). De plus, une forte corrélation entre la concentration en calcium et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,988$) a été observée au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013.

Pour les autres paramètres déterminés dans les moûts, les coefficients de corrélation sont faibles, excepté entre l'acidité totale et la concentration en acide malique ($R^2 = 0,836$), et entre l'acidité totale et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,848$).

1.3. Composition protéique et identification des protéines

La composition en protéines des moûts de Pinot meunier 2013 a été étudiée, au cours du pressurage, par électrophorèse SDS-PAGE et est présentée dans la Figure 26 et Figure 27. Nous remarquons la présence de 15 bandes protéiques majeures pour les moûts analysés au cours du fractionnement au pressurage. Ces protéines ont été analysées pour la serre S3 (la fraction prélevée en milieu de pressurage) par spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) après une séparation par électrophorèse SDS-PAGE et une coloration au bleu de Coomassie (Figure 26B et Tableau 5).

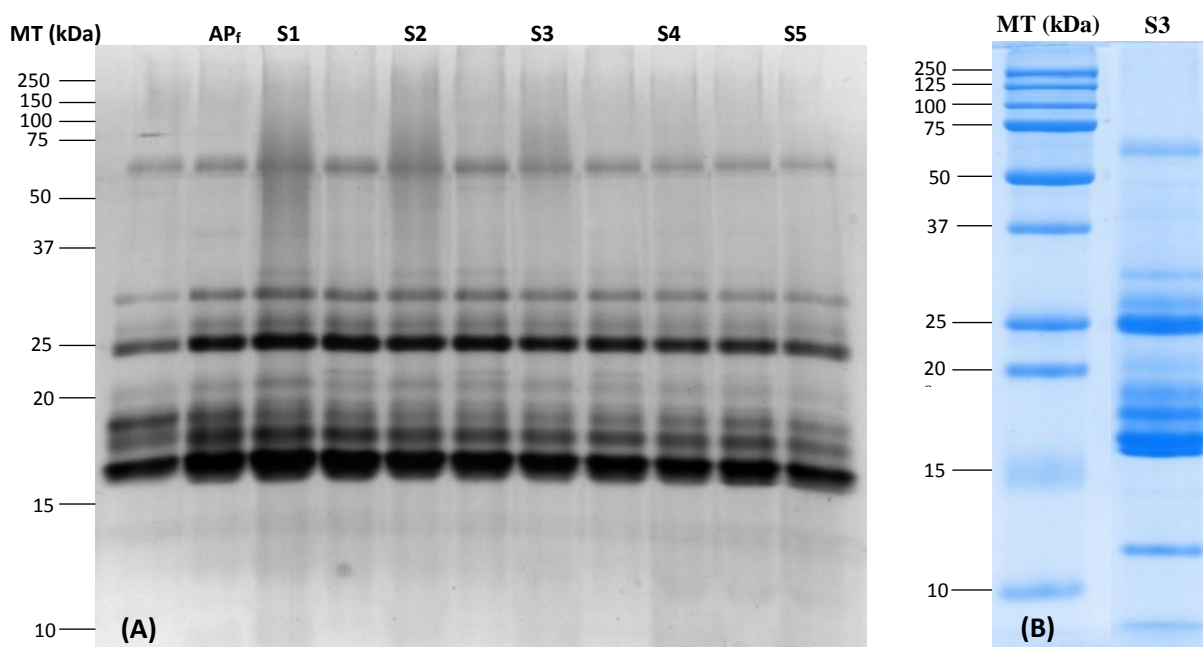


Figure 26. Profils protéiques des moûts de Pinot meunier 2013 après séparation sur gel SDS-PAGE. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. MT, marqueur de taille (kDa)

(A) Evolution de la composition en protéines au cours du pressurage (coloration au nitrate d'argent) ; (B) Composition protéique du moût S3 observé en SDS-PAGE avec une coloration au bleu de Coomassie. Le moût S3 a été concentré 30 fois par ultrafiltration (MWCO 10kDa).

La masse moléculaire de chaque bande protéique a été attribuée à l'aide du logiciel « Quantity One® ».

Tableau 5. Protéines identifiées dans le moût S3 de Pinot meunier 2013 (données d’Uniprot et NCBI nr Viridiplantae and Fungi). MM, masse moléculaire

Numéro d'accèsion	Protéines identifiées	MM (kDa)
296084197	vacuolar invertase 1, GIN1 [Vitis vinifera=grape berries, Sultana, berries, Peptide, 642 aa]	60,52
225441373	PREDICTED: glucan endo-1,3-beta-glucosidase [Vitis vinifera]	36,65
296081863	PREDICTED: bark storage protein A [Vitis vinifera]	35,34
225434381	PREDICTED: peroxidase 4 [Vitis vinifera]	34,04
147791187	hypothetical protein VITISV_038584 [Vitis vinifera]	31,86
164699029	class IV chitinase [Vitis pseudoreticulata]	27,29
163914227	putative thaumatin-like protein [Vitis hybrid cultivar]	23,94
89242714	thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,92
33329390	thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,87
1839046	osmotin-like protein [Vitis vinifera]	23,86
225426793	PREDICTED: thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,84
410563154	Chain A, Structure Of Haze Forming Proteins In White Wines: Vitis Vinifera Thaumatin-Like Proteins	21,27
7406714	putative thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	20,11
297746286	ripening-related protein grip22 precursor [Vitis vinifera]	18,21
3511147	PR-4 type protein [Vitis vinifera]	15,22
6273716	1,3 beta glucanase [Vitis vinifera]	13,36

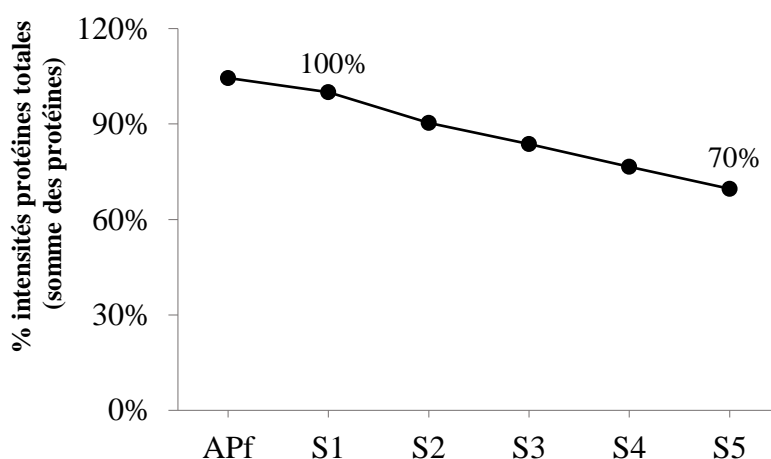


Figure 27. Evolution des protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Les résultats d'électrophorèse SDS-PAGE (Figure 26A et Figure 27) montrent une évolution de la composition en protéines des moûts au cours du pressurage. La teneur en protéines totales diminue fortement du moût AP_f au moût S5 (Figure 27). Nous observons que les profils protéiques des moûts sont similaires tout au long du pressurage des raisins Pinot meunier 2013. Les différences entre les moûts concernent plutôt l'intensité des bandes que l'identité des protéines. Une diminution de la concentration en protéines a été observée au niveau de toutes les bandes protéiques majeures étudiées. Les résultats de la quantification par densitométrie montrent que la concentration en protéines totales diminue de 30% du moût S1 au moût S5 (Figure 27). Les profils protéiques indiquent également une absence de protéines entre 32 et 58 kDa ainsi que dans la zone supérieure à 100 kDa. Cela pourrait être expliqué par la concentration en protéines qui est plus élevée dans la zone intermédiaire et diminue en allant vers la zone périphérique de la baie des raisins, par condition du pressurage des raisins et/ou par une contamination de *Botrytis cinerea* sur la baie des raisins comme cela a été observé dans des études précédentes (Valade *et al.*, 1989; Hardy, 1990; Marchal *et al.*, 1998, 2001, 2006; Cilindre *et al.*, 2008; Hong *et al.*, 2011; Kupfer *et al.*, 2017).

Les résultats d'électrophorèse SDS-PAGE (coloration au bleu de Coomassie) (Figure 26B) et l'identification des protéines par spectrométrie de masse (Tableau 5) montrent que les principales protéines de *Vitis vinifera* identifiées dans le moût S3 sont : (1) l'invertase vacuolaire, qui est une enzyme clé impliquée dans le métabolisme des sucres (Dambrouck *et al.*, 2005; Jégou *et al.*, 2009), et (2) les protéines liées à la « pathogénicité » (Pathogenesis-Related Proteins ou PR-protéines), comprenant les protéines des familles PR-2 (β -1,3-glucanases et endo- β -1,3-glucosidases) (Christensen, 2002; van Loon *et al.*, 2006), PR-3 (chitinases de classe IV), PR-4 et PR-5 (VVTL1, thaumatine-like et osmotin-like protéines) ; Ces protéines s'accumulent dans les baies de raisin au cours de la maturation et elles peuvent être induites par des stress biotiques et/ou abiotiques.

1.4. Discussion sur les moûts

Lorsqu'une grappe est soumise à des pressions d'écrasement croissantes, c'est d'abord la baie de raisin qui éclate, par déchirure de la pellicule, le plus souvent dans la partie inférieure du grain, celle opposée au pédicelle (Chabas *et al.*, 2003). Ensuite les cellules de la pulpe se déchirent, libérant des moûts qui s'écoulent progressivement à l'extérieur de la baie. Ces cellules ont un ordre préférentiel d'éclatement : d'abord la zone intermédiaire se vide, puis la zone centrale, enfin la zone périphérique. Les pressions s'élevant, les cellules de la pellicule de la baie de raisin éclatent à leur

tour et ce sont ensuite les cellules des pédicelles et de la rafle qui libèrent leurs composés. Enfin, les pépins sont écrasés sous l'effet de pressions extrêmes (Coombe, 1987; Hardy, 1990).

L'auto-pressurage est un pressurage des baies de raisin sous l'action du poids de la récolte. Ce phénomène peut se produire aussi bien au cours du transport de la vendange en gros volume (remorque), que dans le pressoir, lorsqu'il est chargé. Nos résultats (Tableau 3) montrent qu'excepté la concentration en sucres, les autres valeurs pour le moût AP_f de raisin Pinot meunier 2013 (pH, acide malique, acide tartrique) sont généralement plus faibles que celles des autres moûts (du moût S1 au moût S5), comme cela a été observé dans une précédente étude (Marchal *et al.*, 2012). Cela pourrait être expliqué par la présence d'eau entre les baies de raisin au sein des grappes au moment de leur prélèvement, ce qui induirait un effet de dilution du jus d'auto-pressurage. Cependant, l'impact de ce paramètre est difficile à estimer.

L'acidité totale est représentée majoritairement par les acides tartrique et malique qui sont responsables de 90% de l'acidité totale (Conde *et al.*, 2007) et qui se retrouvent en concentration croissante de l'intérieur de la baie vers l'extérieur (Blouin et Gimberteau, 2000). Une diminution de la concentration en acides a été observée au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013 : l'acidité totale diminue de 35%, la concentration en acide malique et en acide tartrique diminue respectivement de 17% et de 53% dans le moût S5 par rapport au moût S1 (Tableau 3). Ces résultats sont en accord avec la localisation de ces acides dans la baie de raisin. En effet, la concentration en acide tartrique est la plus élevée dans la zone intermédiaire (Possner et Kliewer, 1985; Conde *et al.*, 2007), tandis que la concentration en acide malique est la plus élevée dans la zone centrale et diminue en allant vers la zone périphérique (Conde *et al.*, 2007). De plus, nos résultats rendent compte d'une forte corrélation entre l'acidité totale et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,848$), ainsi qu'entre l'acidité totale et la concentration en acide malique ($R^2 = 0,836$) au cours du cycle de pressurage des raisins.

Le pH résulte de deux phénomènes simultanés qui sont la salification des acides des moûts et l'augmentation des composés minéraux (en particulier, le potassium). Il est le paramètre qui reflète le mieux l'évolution chimique du moût écoulé et ainsi la qualité des moûts et vins. Nos résultats montrent que sa valeur augmente d'environ 0,36 unité du moût S1 (2,98) au moût S5 (3,34) (Tableau 3). Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Yokotsuka, 1990; Darias-Martin *et al.*, 2004; Patel *et al.*, 2010; Marchal *et al.*, 2012), suggérant que les premiers jus pressés ont une concentration plus élevée en acides.

La concentration en potassium et en calcium augmente respectivement de 13% et de 44% au cours du cycle de pressurage (Tableau 3). En fait, la concentration en potassium et en calcium est la plus élevée dans la zone périphérique de la baie de raisin mature, et ceux-ci seraient donc libérés

au cours des dernières étapes du fractionnement au pressurage (Possner et Kliewer, 1985; Davies *et al.*, 2006). Une forte corrélation entre les concentrations en calcium et en acide tartrique ($R^2 = 0,988$), ainsi qu'entre le pH et le calcium ($R^2 = 0,885$) a été observée au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (Tableau 4).

La concentration en sucres est plus élevée dans la zone intermédiaire de la baie de raisin par rapport à celle de la zone périphérique et de la zone à proximité des pépins (Blouin et Gimberteau, 2000). Les résultats montrent que leur concentration diminue de 3,1% du moût S1 (143,5 g/L) au moût S5 (139,1 g/L) (Tableau 3). Des observations similaires ont été faites pour des jus de raisin isolés au cours de pressurages (Yokotsuka, 1990; Darias-Martin *et al.*, 2004).

L'acide gluconique est un marqueur de contamination des baies de raisin par *Botrytis cinerea*. La concentration en acide gluconique varie entre 61 et 79 mg/L dans les moûts issus du fractionnement au pressurage (Tableau 3). Ces valeurs montrent une faible contamination des raisins Pinot meunier par *Botrytis cinerea*. En effet, à l'échelle industrielle, malgré un tri visuel des grappes saines à la parcelle, il n'est pas exclu que certaines caisses de raisins chargés dans le pressoir ne contiennent pas quelques grappes contaminées par *Botrytis cinerea*. Il faut noter que la concentration en acide gluconique est significativement plus élevée dans le moût AP_f (152 mg/L). Ceci serait expliqué par la présence sur la peau des baies de raisin de *Botrytis cinerea* qui serait « lessivé » au cours de l'extraction des premiers jus.

Les résultats d'électrophorèse SDS-PAGE (Figure 26A et Figure 27) montrent une évolution similaire de la composition en protéines dans les moûts de Pinot meunier 2013 : la concentration en protéines totales diminue de 25% de S1 à S5. De plus, ces profils protéiques sont similaires au cours du pressurage. Les différences principales entre les moûts concernent l'intensité des bandes protéiques : une diminution de la concentration en protéines majeures a été observée pour toutes les bandes dans les moûts (Figure 26A). Les profils protéiques indiquent également une absence de protéines entre 32 et 58 kDa ainsi que dans la zone supérieure à 100 kDa. Cela pourrait expliquer par la concentration en protéines est la plus élevée dans la zone intermédiaire et diminue en allant vers la zone périphérique de la baie des raisins.

Parmi les principales protéines des moûts (Tableau 5), on trouve l'invertase vacuolaire de raisin, qui est une enzyme clé impliquée dans le métabolisme des sucres (Dambrouck *et al.*, 2005; Jégou *et al.*, 2009). Cette protéine serait impliquée dans les propriétés moussantes du Champagne (Dambrouck *et al.*, 2005).

La plupart des PR-protéines, classées dans 17 familles, ont des activités antifongiques. Les protéines PR-2, PR-3, PR-4 et PR-5 ont été identifiées dans le moût de Pinot meunier 2013 (Tableau 5). Ces protéines s'accumulent dans les raisins au cours de la maturation du raisin et elles peuvent être induites par des stress biotiques et/ou abiotiques.

2. Les vins de Pinot meunier de la vendange 2013

2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins

Le Tableau 6 présente les coefficients de corrélation (R^2) déterminés entre les composés et les caractéristiques des vins issus des moûts de Pinot meunier 2013 au cours du pressurage.

Tableau 6. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	pH	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV* (% vol)
AP _f	8,5	2,88	9,3	4,4	587	141	8,4
S1	10,0	2,87	10,1	5,9	702	91	8,16
S2	8,7	2,93	9,2	5,2	745	88	8,27
S3	7,6	2,98	8,3	4,2	770	94	8,31
S4	7,0	3,12	8,2	3,9	994	105	8,09
S5	6,5	3,29	8,7	3,3	1111	119	7,89

* TAV : titre alcoométrique volumique

Nos résultats montrent une augmentation de pH dans les vins issus des moûts au cours du pressurage (pour S1 : 2,87 et pour S5 : 3,29). Contrairement au pH, l'acidité totale diminue de 10 à 6,5 g/L H₂SO₄, et les concentrations en acide malique et en acide tartrique diminuent respectivement de 10,1 à 8,7 g/L et de 5,9 à 3,3 g/L dans les vins de S1 à S5.

Le TAV diminue également du vin S1 au vin S5, pour le vin AP_f : 8,4% vol et pour le vin S5 : 7,9% vol.

La concentration en potassium augmente de 89% du vin AP_f (587 mg/L) au vin S5 (1111 mg/L). Nos résultats montrent que la concentration en calcium est la plus élevée dans le vin AP_f (141 mg/L) ; elle augmente de 35% du vin S2 (88 mg/L) au vin S5 (119 mg/L).

2.2. Corrélations entre les caractéristiques des vins

D’après les résultats obtenus pour les vins de base (Tableau 7), nous pouvons voir que le pH est fortement corrélé à la concentration en potassium ($R^2 = 0,972$), à la concentration en calcium ($R^2 = 0,953$) ainsi qu’à la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,845$). De plus, de fortes corrélations sont observées entre l’acidité totale et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,986$) et entre les concentrations en potassium et en calcium ($R^2 = 0,943$).

Tableau 7. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV* (% vol)
pH	1						
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,804	1					
Acide malique (g/L)	0,343	0,776	1				
Acide tartrique (g/L)	0,845	0,986 ^a	0,710	1			
Potassium (mg/L)	0,972 ^a	0,755	0,321	0,781	1		
Calcium (mg/L)	0,953 ^a	0,652	0,210	0,723	0,943 ^a	1	
TAV* (% vol)	0,706	0,272	0,008	0,329	0,750	0,837	1

* TAV : titre alcoométrique volumique ; a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

2.3. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins

Les coefficients de corrélation (R^2) entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013

	Moûts								
	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acide gluconique (mg/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Sucres (g/L)	
Vins	pH	0,964 ^a	0,863 ^b	0,507	0,995 ^a	0	0,751	0,973 ^a	0,852 ^b
	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,847	0,994 ^a	0,885 ^b	0,786	0,149	0,605	0,723	0,653
	Acide malique (g/L)	0,433	0,707	0,930 ^a	0,321	0,446	0,230	0,252	0,290
	Acide tartrique (g/L)	0,900 ^a	0,990 ^a	0,807	0,820	0,085	0,711	0,764	0,724
	Potassium (mg/L)	0,941 ^a	0,814	0,474	0,963 ^a	0,001	0,615	0,920 ^a	0,880 ^b
	Calcium (mg/L)	0,942 ^a	0,722	0,323	0,931 ^a	0,041	0,769	0,914 ^a	0,928 ^a
	TAV* (% vol)	0,632	0,344	0,056	0,704	0,234	0,486	0,719	0,716

* TAV : titre alcoométrique volumique ; a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Nous pouvons voir que le pH des moûts est fortement corrélé au pH des vins ($R^2 = 0,964$), à la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,900$), en potassium ($R^2 = 0,941$) et en calcium ($R^2 = 0,942$) dans les vins.

Nous pouvons également observer de fortes corrélations entre l'acidité totale dans les moûts avec le pH, l'acidité totale et la concentration en acide tartrique des vins ($R^2 = 0,863$, $R^2 = 0,994$ et $R^2 = 0,990$, respectivement).

Il est intéressant d'observer que la concentration en acide tartrique, en calcium et en sucres dans les moûts est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,995$, $R^2 = 0,973$ et $R^2 = 0,852$, respectivement), avec la concentration en potassium ($R^2 = 0,963$, $R^2 = 0,920$ et $R^2 = 0,880$, respectivement) et également avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,931$, $R^2 = 0,914$ et $R^2 = 0,928$, respectivement) dans les vins.

2.4. Composition protéique et identification des protéines

La composition en protéines des vins de Pinot meunier 2013 a été étudiée, au cours du pressurage, par électrophorèse SDS-PAGE et est présentée dans la Figure 28 et Figure 29. Nous remarquons la présence de 17 bandes protéiques majeures pour les vins analysés au cours du fractionnement au pressurage. Ces protéines ont été analysées pour la serre S3 par spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) après séparation par électrophorèse SDS-PAGE et une coloration au bleu de Coomassie (Figure 28B et Tableau 9).

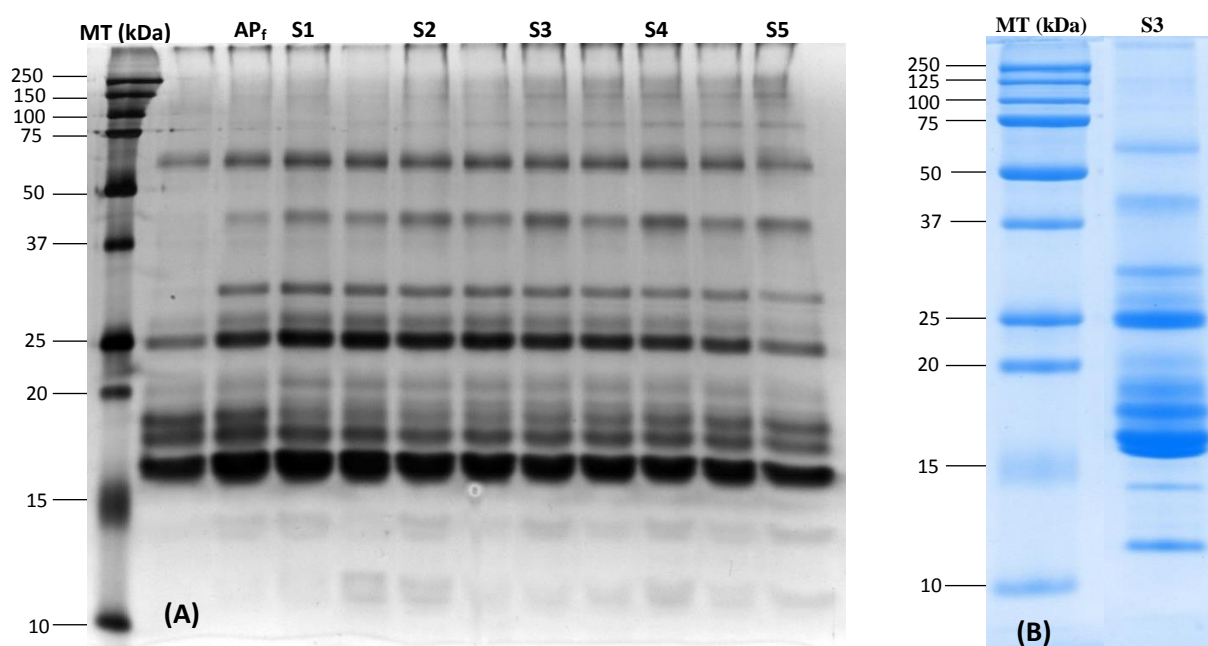


Figure 28. Profils protéiques des vins de Pinot meunier 2013 après séparation sur gel SDS-PAGE. AP_f, fin de l’auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. MT, marqueur de taille (kDa)

(A) Evolution de la composition en protéines au cours du pressurage (coloration au nitrate d’argent) ; (B) Composition protéique du vin S3 observé en SDS-PAGE avec une coloration au bleu de Coomassie. Le vin S3 a été concentré 30 fois par ultrafiltration (MWCO 10kDa). La masse moléculaire de chaque bande protéique a été attribuée à l’aide du logiciel « Quantity One® ».

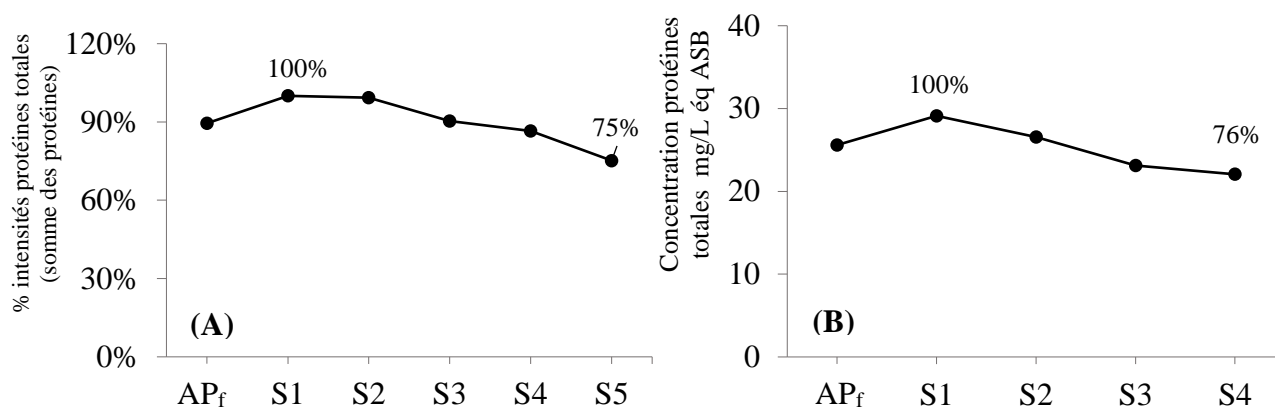


Figure 29. Evolution des protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins
(A) : Méthode SDS-PAGE (% intensité par rapport à S1) ; **(B)** : Méthode de Bradford (mg/L équivalent ASB)

Les résultats d'électrophorèse SDS-PAGE et du dosage des protéines totales par la méthode de Bradford (Figure 28A et Figure 29) montrent une évolution de la composition en protéines des vins au cours du pressurage, et une nette différence entre les vins issus de début de pressurage et ceux de fin de pressurage. Les résultats de la quantification des protéines par densitométrie et par la méthode de Bradford indiquent que la concentration en protéines totales diminue de 30% du vin S1 au vin S5 (Figure 28A et Figure 29) comme cela a été observé dans les moûts. Malgré cette diminution globale, la concentration de certaines protéines augmente dans certains vins ; par exemple, l'intensité des bandes protéiques de masses moléculaires entre 75 et 150 kDa est plus élevée dans les vins de S3 à S5 que celle observée dans les vins S1 et S2 (Figure 28A). De plus, la concentration en protéines de masses moléculaires 37 et 50 kDa (Figure 28A) augmente dans les vins au cours du pressurage.

Les résultats d'électrophorèse SDS-PAGE (coloration au bleu de Coomassie) (Figure 28B) et l'identification des protéines par spectrométrie de masse (Tableau 9) montrent que les principales protéines identifiées dans le vin de base S3 proviennent majoritairement de la baie de raisin et de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*). L'invertase vacuolaire de raisin et les protéines des familles PR-2 (β -1,3-glucanases et endo- β -1,3-glucosidases) (Christensen, 2002; van Loon *et al.*, 2006) et PR-5 (VVTL1, thaumatine-like et osmotin-like protéines) sont les protéines majeures dans les vins de base de Pinot meunier 2013 (Tableau 9) comme cela a été observé dans des études précédentes (Marchal *et al.*, 1998, 2001, 2006; Negri *et al.*, 2009; Deytieux *et al.*, 2011; Cilindre *et al.*, 2008; Le Bourse *et al.*, 2011; Hong *et al.*, 2011; Martínez-Esteso *et al.*, 2011; Fraige *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2015; Kupfer *et al.*, 2017).

Tableau 9. Protéines identifiées dans le vin S3 de Pinot meunier 2013 (données d'Uniprot et NCBI nr Viridiplantae and Fungi). MM, masse moléculaire

Numéro d'accèsion	Protéines identifiées	MM (kDa)
1839046	osmotin-like protein [Vitis vinifera]	225,00
359479995	PREDICTED: probable pectinesterase/pectinesterase inhibitor 40-like [Vitis vinifera]	61,61
296084197	vacuolar invertase 1, GIN1 [Vitis vinifera=grape berries, Sultana, berries, Peptide, 642 aa]	60,52
207342034	YMR307Wp-like protein [Saccharomyces cerevisiae AWRI1631]	48,34
225448651	PREDICTED: alpha-galactosidase [Vitis vinifera]	46,82
302142276	PREDICTED: cysteine proteinase RD21a-like [Vitis vinifera]	42,58
154317437	hypothetical protein BC1G_03070 [Botryotinia fuckeliana B05.10]	39,71
188011483	beta-1,3-glucanase [Vitis vinifera]	37,58
225441375	PREDICTED: glucan endo-1,3-beta-glucosidase, basic isoform [Vitis vinifera]	37,48
225436559	PREDICTED: glucan endo-1,3-beta-glucosidase-like [Vitis vinifera]	37,07
225441373	PREDICTED: glucan endo-1,3-beta-glucosidase [Vitis vinifera]	36,65
225434381	PREDICTED: peroxidase 4 [Vitis vinifera]	34,04
323356050	Ecm33p [Saccharomyces cerevisiae VL3] Extracellular matrix protein 33 precursor	33,73
164699029	class IV chitinase [Vitis pseudoreticulata]	27,29
225426801	PREDICTED: thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	24,17
147798872	hypothetical protein VITISV_004208 [Vitis vinifera]	23,96
323306112	Ecm33p [Saccharomyces cerevisiae FostersB]	23,95
163914227	putative thaumatin-like protein [Vitis hybrid cultivar]	23,94
89242714	thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,92
33329390	thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,87
225426795	PREDICTED: thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,86
225426793	PREDICTED: thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	23,84
225435369	PREDICTED: ripening-related protein grip22 [Vitis vinifera]	22,78
147801462	hypothetical protein VITISV_010558 [Vitis vinifera]	22,44
410563154	Chain A, Structure Of Haze Forming Proteins In White Wines: Vitis Vinifera Thaumatin-Like Proteins	21,27
7406714	putative thaumatin-like protein [Vitis vinifera]	20,11
297746286	ripening-related protein grip22 precursor [Vitis vinifera]	18,21
225429119	PREDICTED: basic form of pathogenesis-related protein 1 [Vitis vinifera]	17,33
3511147	PR-4 type protein [Vitis vinifera]	15,22

De plus, nous observons une protéase aspartique qui provient de *Botrytis cinerea* (MM : 39,7 kDa et pI : 5,68) et les trois protéines levuriennes suivantes dans les vins de base de Pinot meunier 2013 : YMR307Wp-like [*Saccharomyces cerevisiae* AWRI1631], Ecm33p [*Saccharomyces cerevisiae* VL3] et Ecm33p [*Saccharomyces cerevisiae* FostersB]. Ces 3 protéines levuriennes identifiées dans le vin de base correspondent à des mannoprotéines de la paroi cellulaire des levures (Marchal *et al.*, 2001, 2006; Moine-Ledoux *et al.*, 2002; Cilindre *et al.*, 2008; Le Bourse *et al.*, 2011; Hong *et al.*, 2011; Martínez-Esteso *et al.*, 2011) ; celles-ci qui n'ont pas été trouvées dans les moûts de Pinot meunier 2013.

2.5. Teneurs et caractérisation des PS

2.5.1. Composition en oses des PS

L'effet du pressurage sur la composition en oses et le rapport Ara/Gal des PS dans les vins de base de Pinot meunier 2013 est présenté dans le Tableau 10 et la Figure 30.

Tableau 10. Composition en oses des PS (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	2-O-MeFuc	Rha	Fuc	2-O-MeXyl	Ara	Api	Xyl	Man	Gal	Glc
AP _f	0,61	7,6	0,73	0,33	41,7	0,52	1,18	84,7	70,8	16,3
S1	0,28	5,5	0,56	0,21	36,3	0,87	0,33	77,7	63,9	7,5
S2	0,28	3,4	0,42	0,16	28,5	0,56	0,49	73,2	52,8	7,9
S3	0,21	2,7	0,42	0,26	24,3	0,42	0,24	76,6	54,6	7,9
S4	0,21	2,4	0,33	0,16	16,5	0,28	0,35	72,2	51,9	3,5
S5	0,28	2,5	0,31	0,21	10,8	0,33	0,24	64,8	43,6	2,9

2-O-MeFuc, 2-O-CH₃-fucose ; Rha, rhamnose ; Fuc, fucose ; 2-O-MeXyl, 2-O-CH₃-xylose ; Ara, arabinose ; Api, apiose ; Xyl, xylose ; Man, mannose ; Gal, galactose ; Glc, glucose

D'après les résultats obtenus, excepté pour l'apiose et le xylose, la concentration en oses est plus élevée dans le vin AP_f. Les concentrations en mannose et en galactose des PS du vin AP_f sont les plus élevées (respectivement 84,7 et 70,8 mg/L). Leur concentration diminue respectivement de 24% et de 38% dans les vins d'AP_f à S5.

L'arabinose et le glucose sont également des oses majeurs des PS et leur concentration diminue au cours du cycle de pressurage. Leur concentration est la plus élevée dans le vin AP_f (respectivement 41,7 et 16,3 mg/L) et diminue de 13% et 54% dans le vin S1 (respectivement 36,3 et 7,5 mg/L). Leur concentration dans le vin S5 est respectivement 10,8 et 2,9 mg/L.

La concentration en rhamnose diminue de 68% du vin AP_f (7,6 mg/L) au vin S4 (2,4 mg/L). La concentration en 2-O-MeFuc, en fucose et en 2-O-MeXyl est faible par rapport aux autres oses dans les vins de base de Pinot meunier 2013. La concentration en 2-O-MeXyl est stable dans la gamme de 0,16 à 0,26 mg/L du vin S1 au vin S5, et celle du fucose diminue de 58% du vin AP_f (0,73 mg/L) au vin S5 (0,31 mg/L).

Le rapport Ara/Gal des PS présenté dans la Figure 30 diminue de 58% du vin AP_f (0,72) au vin S5 (0,30).

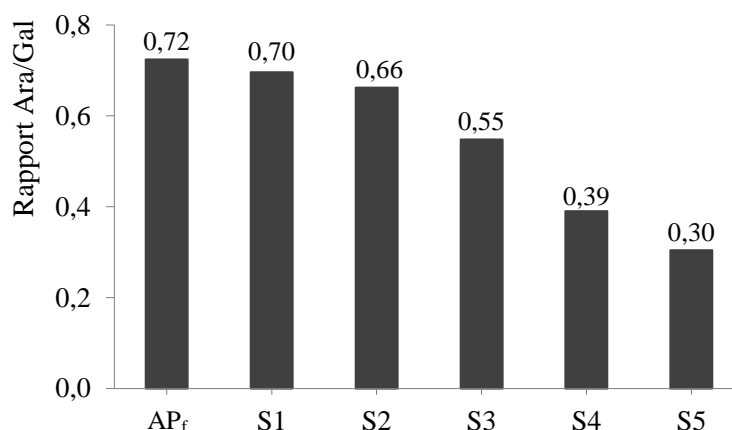


Figure 30. Evolution du rapport Ara/Gal des PS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

2.5.2. Les PS

L'évolution de la concentration et du pourcentage de chaque famille de PS, et de la concentration en PS totaux dans les vins de Pinot meunier 2013 est présentée dans les Figure 31, Figure 32, Figure 33.

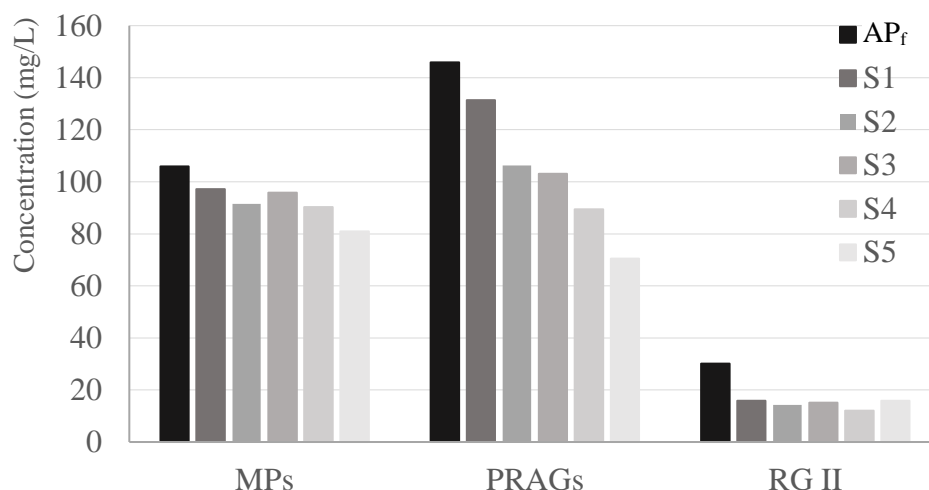


Figure 31. Evolution de la concentration des MPs, des PRAGs et du RG-II (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l’auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

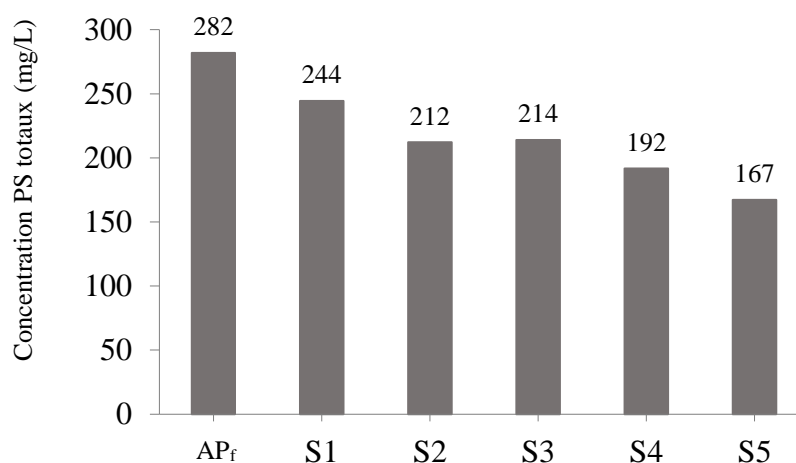


Figure 32. Evolution de la concentration des PS totaux (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l’auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

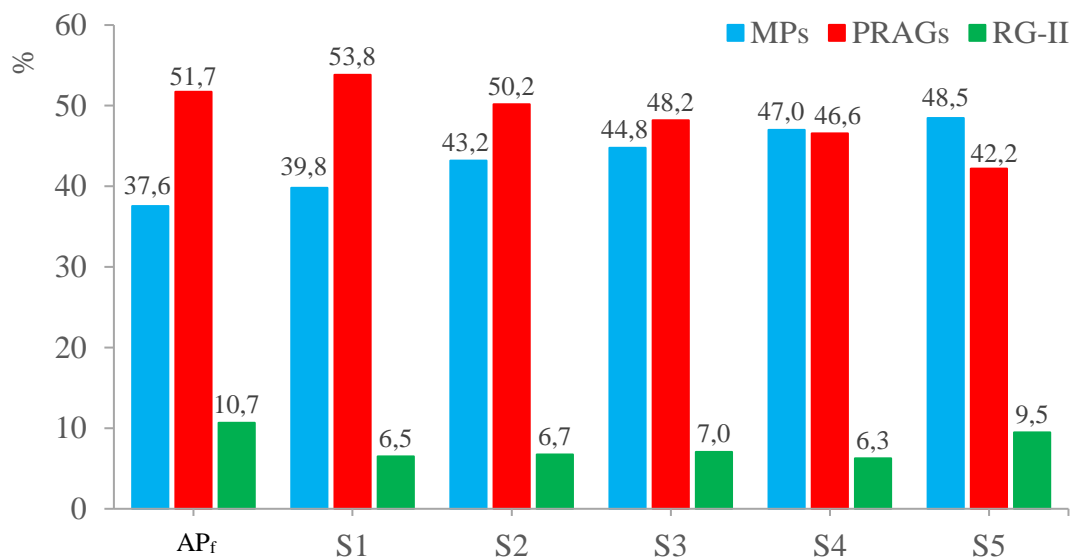


Figure 33. Pourcentage des MPs, des PRAGs et du RG-II (%) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l’auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

D’après les résultats obtenus dans la Figure 31, la concentration en RG-II, en PRAGs et en MPs est la plus élevée dans le vin AP_f (respectivement 30, 146 et 106 mg/L).

La concentration en PRAGs et en MPs diminue respectivement de 146 à 70 mg/L et de 106 à 81 mg/L dans les vins de AP_f à S5, celle en RG-II diminue de 47% du vin AP_f (30 mg/L) au vin S1 (16 mg/L) ; elle reste relativement stable du vin S2 au vin S5 dans la gamme de 12 à 16 mg/L.

Le Figure 32 montre que la concentration en PS totaux est la plus élevée pour le vin AP_f (282 mg/L). Cette concentration diminue ensuite du vin S1 (244 mg/L) au vin S5 (167 mg/L).

Dans la Figure 33, nous observons que les PRAGs représentent 51,7% des PS totaux dans le vin AP_f, 53,8% des PS totaux dans le vin S1 ; ce pourcentage est plus faible dans le vin S5 (42,2%) et diminue au cours du pressurage. Les MPs représentent 37,6% des PS totaux dans le vin AP_f et ce pourcentage augmente de 29% du vin AP_f au vin S5 (48,5%). Le pourcentage du RG-II est plus élevé dans les vins AP_f (10,7%) et S5 (9,5%) ; il reste stable du vin S1 au vin S4, dans la gamme de 6,3 à 7%.

2.6. Teneurs et caractérisation des OS

2.6.1. Composition en oses des OS

La composition en oses des OS et les rapports arabinose/galactose, rhamnose/acide galacturonique et (arabinose+galactose)/rhamnose dans les vins de Pinot meunier 2013 sont présentés dans le Tableau 11 et les Figure 34, Figure 35, Figure 36.

Tableau 11. Composition en oses des OS (% molaire) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l’auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	A Gal	A Glc	Xylitol	4-OMeA Glc
AP _f	3,5	1,2	11,7	10,5	15,9	4,9	34,3	5,2	1,5	7,7	3,6
S1	2,0	1,3	9,6	11,0	15,9	4,2	36,9	3,8	1,2	10,3	3,7
S2	2,1	1,4	9,0	12,6	16,4	3,1	35,3	3,6	1,0	12,2	3,4
S3	2,3	1,5	10,4	14,5	15,7	3,0	31,9	3,7	1,4	11,8	3,7
S4	2,1	1,4	7,1	14,9	18,5	4,3	28,9	3,8	1,8	12,8	4,3
S5	2,8	1,5	6,9	15,2	18,0	5,6	27,4	3,9	1,9	12,9	3,9

Rha, Rhamnose ; Fuc, Fucose ; Ara, Arabinose ; Xyl, Xylose ; Man, Mannose ; Gal, Galactose ; A Gal, acide galacturonique ; Glc, Glucose ; A Glc, Acide glucuronique ; 4-OMeA Glc, 4-O-méthyl acide glucuronique

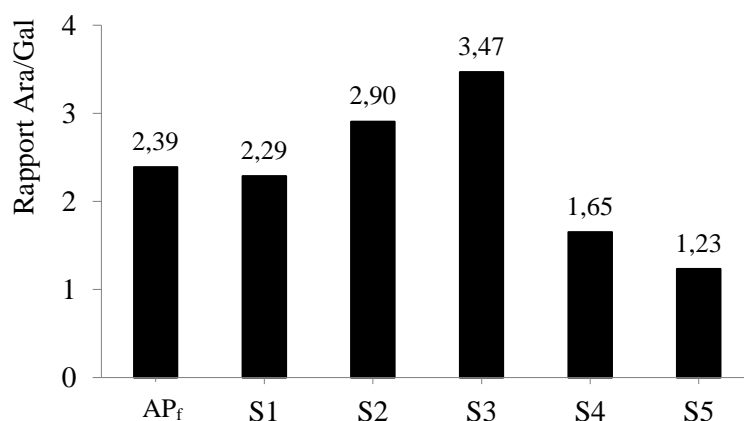


Figure 34. Evolution du rapport Ara/Gal des OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l’auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

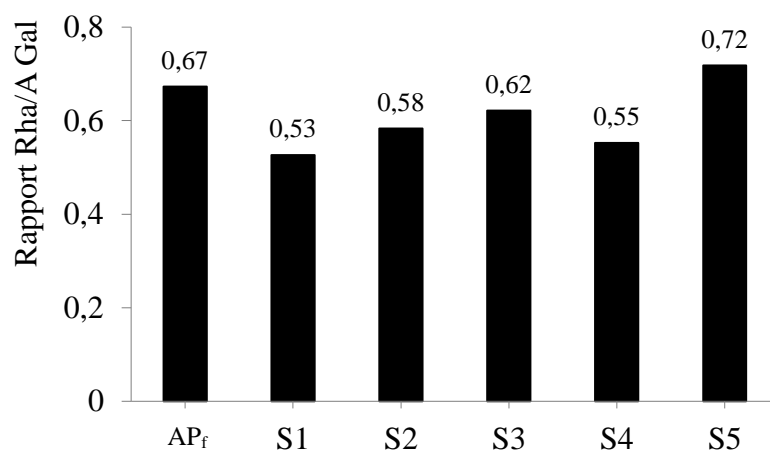


Figure 35. Evolution du rapport Rha/A Gal des OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

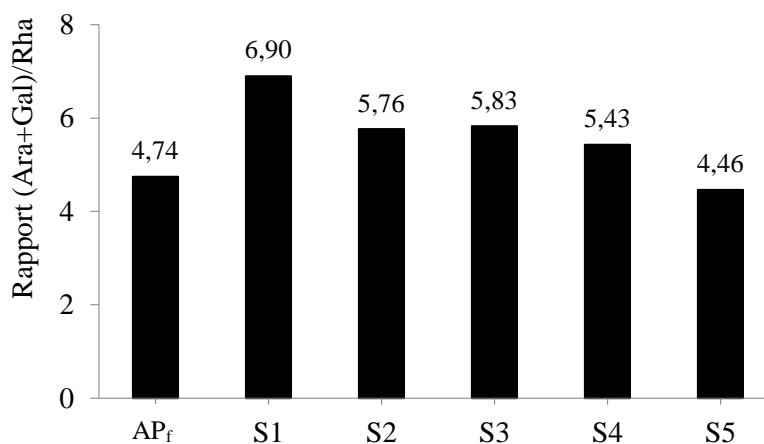


Figure 36. Evolution du rapport (Ara+Gal)/Rha des OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Le Tableau 11 montre que le % molaire en fucose, en xylitol, et en xylose est plus faible dans le vin AP_f (respectivement 1,2 ; 7,7 et 10,5% mol) par rapport aux autres vins. Au contraire, le % molaire en arabinose, en rhamnose et en acide galacturonique est le plus élevé dans le vin AP_f (respectivement 11,7 ; 3,5 et 5,2% mol).

Le glucose est l'ose constitutif principal des OS. Son % molaire diminue au cours du pressurage, de 36,9% mol dans le vin S1 à 27,4% mol dans le vin S5.

Le mannose, le xylitol et le xylose sont également des oses constitutifs majeurs des OS. Leur % molaire évolue respectivement de 15,7 à 18,5% mol, de 7,7 à 12,9% mol et de 10,5 à 15,2% mol, dans les vins au cours du pressurage.

Le % molaire en arabinose diminue du vin AP_f (11,7% mol) au vin S3 (10,4% mol), puis il diminue de 34% du vin S3 au vin S5 (6,9% mol).

La teneur en acide galacturonique et en rhamnose est également la plus élevée dans le vin AP_f (respectivement 5,2 et 3,5% mol) puis reste relativement stable, de 3,6 à 3,9% mol et de 2,0 à 2,8% mol du vin S1 au vin S5.

Le % molaire en fucose et en 4-OMeA Glc est faible dans les OS des vins de Pinot meunier 2013.

Plusieurs caractéristiques ont été calculées à partir de la composition en oses des OS : les rapports arabinose/galactose (Ara/Gal) (Figure 34), rhamnose/acide galacturonique (Rha/A Gal) (Figure 35) et (arabinose+galactose)/rhamnose ((Ara+Gal)/Rha) (Figure 36).

Le rapport Ara/Gal augmente de 52% du vin S1 (2,29) au vin S3 (3,47), puis il diminue de 65% du vin S3 au vin S5 (1,23) (Figure 34). Nos résultats montrent que le rapport Rha/A Gal est plus élevé dans les vins AP_f (0,67) et S5 (0,72). Sa valeur est dans la gamme de 0,53 à 0,62 dans les vins de S1 à S4 (Figure 35). Le rapport (Ara+Gal)/Rha augmente de 46% du vin AP_f (4,74) au vin S1 (6,90), puis diminue de 35% du vin S1 au vin S5 (4,46) (Figure 36).

2.6.2. Les OS

La concentration en OS totaux dans les vins de Pinot meunier 2013 a été calculée à partir de la somme des oses individuels et est présentée dans la Figure 37.

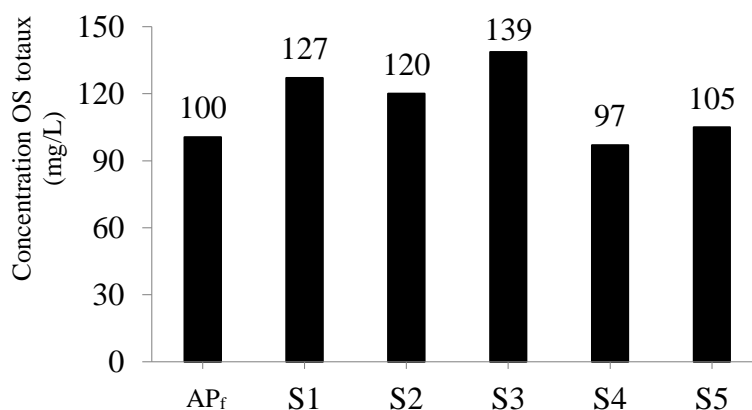


Figure 37. Evolution de la concentration des OS totaux (mg/L) des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Nos résultats montrent que la concentration en OS totaux est la plus élevée dans le vin S3 (139 mg/L) et la plus faible dans le vin S4 (97 mg/L). Elle varie de 101 à 127 mg/L du vin AP_f au vin S2.

2.7. Composition en acides aminés des fractions PS et OS

2.7.1. Composition en acides aminés des fractions PS

La composition en acides aminés des fractions PS (% des acides aminés totaux) est présentée dans le Tableau 12.

Tableau 12. Composition en acides aminés (%) des fractions PS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	AP _f	S1	S2	S3	S4	S5
Ala	10,0	10,4	9,8	11,0	10,8	10,4
Gly	5,1	5,9	7,1	7,1	7,9	8,1
Val	5,7	5,7	5,9	5,7	5,9	5,4
Leu	4,3	3,5	4,2	3,7	4,6	4,4
Ile	3,0	2,4	3,1	2,6	3,0	3,0
Ser	15,7	17,9	15,8	18,7	17,1	16,8
Thr	12,6	13,1	11,7	13,2	12,5	12,5
Asx	9,8	7,5	9,4	7,8	10,4	9,1
Glx	8,8	9,2	8,5	8,5	9,0	8,2
Pro	4,6	4,8	4,5	4,4	4,4	4,5
Hyp	6,9	9,2	5,9	6,8	5,0	6,3
Arg	1,9	1,5	2,4	1,9	2,0	1,6
Lys	4,1	4,5	4,0	3,5	0,04	2,9
His	0,9	0,8	1,1	0,8	1,1	0,9
Phe	3,2	1,7	3,1	2,1	3,2	2,9
Tyr	1,3	0,7	1,0	0,8	0,4	2,1
A Cys+ Cystine	2,0	1,1	2,6	1,6	2,7	0,8
Met + Met sulf	0,05	nd	nd	nd	nd	0,1

Ala, alanine ; Gly, glycine ; Val, valine ; Leu, leucine ; Ile, isoleucine ; Ser, sérine ; Thr, thréonine ; Asx, somme acide aspartique et asparagine ; Glx, somme acide glutamique et glutamine ; Pro, proline ; Hyp, hydroxyproline ; Arg, arginine ; Lys, lysine ; His, histidine ; Phe, phénylalanine ; Tyr, tyrosine ; A Cys, acide cystéique ; Met, méthionine ; Met sulf, méthionine sulfoxyde ; nd : non détecté

La sérine, la thréonine et l'alanine sont les acides aminés majeurs de la partie aglycone des fractions PS des vins de Pinot meunier 2013. La Ser, la Thr et l'Ala représentent respectivement de 15,7 à 18,7%, de 11,7 à 13,2% et de 9,8 à 11% des acides aminés totaux. Les acides aminés suivants sont également des constituants importants des fractions PS des vins de base de Pinot meunier 2013 : Asx estimé par la somme acide aspartique et asparagine (de 7,5 à 10,4%), Glx estimé par la somme acide glutamique et glutamine (de 8,2 à 9,2%), l'hydroxyproline (de 5 à 9,2%).

2.7.2. Composition en acides aminés des fractions OS

Le Tableau 13 présente la composition en acides aminés des fractions OS en % des acides aminés totaux.

Tableau 13. Composition en acides aminés (%) des fractions OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	AP _f	S1	S2	S3	S4	S5
Ala	7,4	7,1	7,7	8,3	8,5	7,8
Gly	7,3	6,2	7,0	7,7	8,2	8,5
Val	7,6	7,8	8,1	8,4	7,7	7,7
Leu	4,6	4,6	4,8	4,3	4,5	3,9
Ile	5,3	5,2	5,3	5,6	5,5	5,3
Ser	7,2	7,5	7,0	7,7	7,9	7,3
Thr	8,8	8,7	8,4	8,9	8,9	9,2
Asx	14,3	14,1	13,7	13,4	14,0	14,4
Glx	15,3	15,9	15,9	16,0	16,8	17,1
Pro	7,4	7,8	7,9	6,8	7,2	7,0
Hyp	1,8	2,9	2,9	1,8	1,4	1,6
Arg	1,4	1,1	1,2	1,2	1,1	1,1
Lys	4,1	5,3	4,8	4,5	3,3	3,0
His	1,0	1,4	1,3	1,1	1,1	0,8
Phe	1,7	0,9	0,9	1,0	1,2	1,3
Tyr	0,6	0,3	1,0	0,2	0,7	0,1
A Cys+ Cystine	4,1	3,1	1,8	3,0	1,7	3,7
Met + Met sulf	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3

Ala, alanine ; Gly, glycine ; Val, valine ; Leu, leucine ; Ile, isoleucine ; Ser, sérine ; Thr, thréonine ; Asx, somme acide aspartique et asparagine ; Glx, somme acide glutamique et glutamine ; Pro, proline ; Hyp, hydroxyproline ; Arg, arginine ; Lys, lysine ; His, histidine ; Phe, phénylalanine ; Tyr, tyrosine ; A Cys, acide cystéique ; Met, méthionine ; Met sulf, méthionine sulfoxyde

Nos résultats montrent que l'acide aspartique et l'asparagine (Asx), l'acide glutamique et la glutamine (Glx) sont les acides aminés majeurs de la partie aglycone des fractions OS des vins de Pinot meunier 2013. Leur valeur varie respectivement de 13,4 à 14,4% et de 15,3 à 17,1% du vin AP_f au vin S5.

La concentration en acides aminés totaux des fractions PS et OS dans les vins est présentée dans la Figure 38.

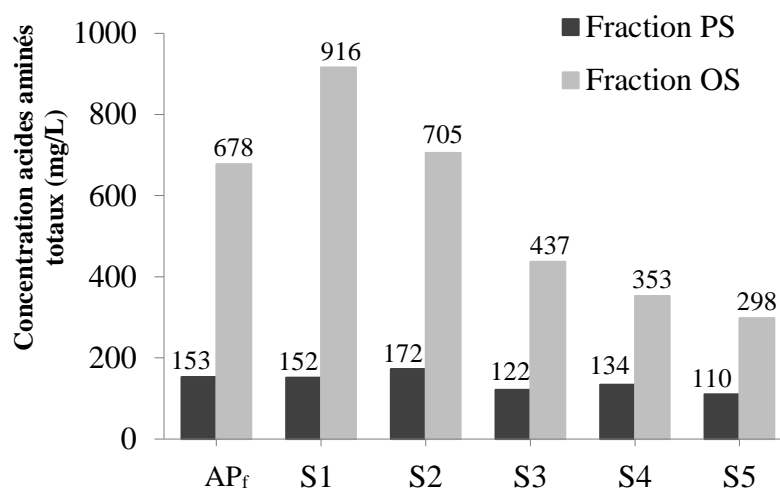


Figure 38. Evolution de la composition en acides aminés totaux (mg/L) des fractions PS et OS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013. AP_f, fin de l'auto-pressurage ; S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

La concentration en acides aminés totaux de la fraction OS augmente dans les vins de AP_f (678 mg/L) à S1 (916 mg/L), elle diminue ensuite de 67% dans du vin S1 au vin S5. La concentration en acides aminés totaux de la fraction PS est stable dans les vins AP_f (153 mg/L) et S1 (152 mg/L) puis elle diminue de 36% dans le vin S5 (110 mg/L) par rapport au vin S2 (172 mg/L).

2.8. Discussion sur les vins

Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins

Au cours du pressurage, les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de base de Pinot meunier 2013 suivent les mêmes tendances que les paramètres des moûts correspondants. Cependant, la concentration en potassium dans les vins est de 1,61 à 2,24 fois plus faible que celle des moûts correspondants. Cela pourrait peut-être être expliqué par la formation des sels de bitartrate de potassium après la fermentation (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Davaux *et al.*, 2013) ; le "passage au froid" et la filtration des vins sont des étapes de vinification qui peuvent entraîner la diminution de la concentration en potassium dans le vin. Mais cette stabilité va dépendre de certains facteurs tels que la concentration en acide tartrique, en éthanol, en potassium, en calcium, le pH, la température et la présence de colloïdes (Moine *et al.*, 2013). On peut noter que la concentration en potassium des vins est fortement corrélée avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,943$) et avec le pH ($R^2 = 0,972$) des vins, et également avec la concentration en calcium et avec le pH des moûts (respectivement $R^2 = 0,920$ et $R^2 = 0,941$). De plus, de fortes corrélations ont été observées entre la concentration en acide tartrique des vins et le pH et l'acidité totale des moûts (respectivement $R^2 = 0,900$ et $R^2 = 0,990$), et des vins (respectivement $R^2 = 0,845$ et $R^2 = 0,986$) d'après les résultats obtenus.

Composition protéique et l'identification des protéines des vins

Les résultats d'électrophorèse SDS-PAGE (Figure 28A et Figure 29) montrent la concentration en protéines totales des vins de Pinot meunier 2013 diminue de 25% du vin S1 au vin S5. De plus, ces profils protéiques sont similaires du vin S1 au vin S5. Les différences principales dans les vins concernent l'intensité des bandes protéiques : une diminution de la concentration en protéines majeures a été observée pour toutes les bandes dans les vins (Figure 29), tandis que la concentration en protéines de masses moléculaires 37 et 50 kDa (Figure 28A) augmente du vin S1 au vin S5.

Parmi les principales protéines des vins identifiées (Tableau 9), on trouve l'invertase vacuolaire de raisin, qui est une enzyme clé impliquée dans le métabolisme des sucres (Dambrouck *et al.*, 2005; Jégou *et al.*, 2009). L'invertase vacuolaire 1 est l'isoforme principale retrouvée dans les vins (masse moléculaire théorique : 60,52 kDa ; pI : 4,65). Cette protéine serait impliquée dans les propriétés moussantes du Champagne (Dambrouck *et al.*, 2005).

La plupart des PR-protéines, classées dans 17 familles, ont des activités antifongiques. Les protéines PR-2, PR-3, PR-4, PR-5 et PR-14 ont été identifiées dans le vin de Pinot meunier 2013 (Tableau 9). Ces protéines s'accumulent dans les raisins au cours de la maturation du raisin et elles peuvent être induites par des stress biotiques et/ou abiotiques. La protéine VVTL1, largement impliquée dans les troubles protéiques des vins (Vincenzi *et al.*, 2011) a été identifiée dans les vins de notre étude. Les protéines levuriennes Ecm33p de *Saccharomyces cerevisiae*, FostersB et VL3, identifiées dans le vin de base S3 font partie de la famille des mannoprotéines de la paroi cellulaire de la levure (*Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus*) ; leur masse moléculaire théorique est respectivement de 23,9 kDa et 33,7 kDa et leur pI est respectivement de 4,68 et de 5,06. Ces protéines levuriennes présentent des homologies de séquences avec les protéines *PSTI* ou *Hpf2* qui sont des glycoprotéines impliquées dans les troubles des vins, en évitant leur formation (Klis *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2009).

Nos résultats montrent également la présence de deux protéases dans le vin S3 de Pinot meunier 2013 (Tableau 9) : une protéase à cystéine qui provient de *Vitis vinifera* (MM : 42,6 kDa et pI : 5,15) et une protéase aspartique qui provient de *Botrytis fuckeliana*, forme téléomorphe de *Botrytis cinerea* (MM : 39,7 kDa et pI : 5,68). Les protéases fongiques et d'origine végétale présentes dans le vin peuvent hydrolyser les protéines du vin et donc modifier sa composition protéique.

Il est important de noter la présence d'une pectinesterase (PE) de *Vitis vinifera* (MM : 61,6 kDa et pI : 8,66) dans le vin de base Pinot meunier 2013 (Tableau 9). Les PE sont impliquées dans la dégradation de la pectine et de la paroi cellulaire des baies de raisin, et peuvent influencer l'extractibilité des PS présents dans les parois cellulaires.

Le fractionnement des PS et OS

Sur la base de la distribution des masses moléculaires des PS et OS, deux fractions ont été recueillies après chromatographie d'exclusion stérique suivant les temps d'élution suivants : de 41 à 65 minutes pour les PS et de 66 à 93 minutes pour les OS. Le premier pic (F1) correspond à des masses moléculaires moyennes de 110 kDa qui ont été éluées entre 41 et 49 minutes sur la colonne Superdex 30-HR et qui correspondent aux PS riches en arabinose et galactose (PRAGs), et aux MPs (Ducasse *et al.*, 2010; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016). Le deuxième pic élué entre 50 et 65 minutes correspond à la fraction contenant le RG-II, qui a une masse moléculaire moyenne de 10 kDa, et des structures de masses inférieures à celles des PRAGs et des MPs (Doco *et al.*, 1999; Ducasse *et al.*, 2010; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016). La dernière fraction éluée entre 66 à 93 minutes contient les OS, comme cela a été montré dans des études antérieures (Ducasse *et al.*, 2010; Bordiga *et al.*, 2012; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Apolinar-Valiente *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

Composition en oses des PS

Nos résultats montrent la présence d'oses neutres composant les PS tels que le mannose, le glucose, le rhamnose, l'arabinose, le galactose et le fucose. Ceci qui confirme la présence de structures arabinogalactane, homogalacturonane, mannane et de type RG dans les PS des vins de base de Pinot meunier 2013 étudiés au cours du pressurage (Ayestarán *et al.*, 2004; Gao *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2015).

La concentration en galactose et en arabinose est plus élevée que celle des autres oses dans les vins issus du cycle de pressurage (respectivement de 43,6 à 70,8 mg/L et de 10,8 à 41,7 mg/L). Ces oses sont corrélés à la présence de PRAGs qui ont été extraits dans les moûts au cours du pressurage des raisins. Une concentration élevée en mannose (de 64,8 à 84,7 mg/L) montre la présence de MPs issues de la levure dans les vins de base de Pinot meunier 2013. Les concentrations en oses déterminées sont du même ordre de grandeur que celles observées dans une étude précédente (Apolinar-Valiente *et al.*, 2014).

Le glucose détecté pourrait provenir de PS microbiens ou bactériens ou d'anthocyanines (Ciezack *et al.*, 2010).

Le rhamnose est présent dans les PRAGs et le RG-II (Pellerin *et al.*, 1995; Vidal *et al.*, 2003) et a été détecté dans les vins de Pinot meunier 2013 à des concentrations comprises entre 2,4 et 7,6 mg/L. Certains oses rares tels que l'apiose, le 2-O-méthyl-fucose, le 2-O-méthyl-xylose ont été également trouvés dans les vins de base de Pinot meunier 2013. Ces oses montrent la présence de RG-II (Vidal *et al.*, 2003) dans tous les vins de base de Pinot meunier 2013. La présence de xylose dans les vins indique la présence de traces d'hémicelluloses qui seraient solubilisées à partir des parois cellulaires de la baie de raisin (Carpita et Gibeaut, 1993; Vidal *et al.*, 2003).

Au cours du pressurage, la concentration en arabinose, en rhamnose, en galactose et en mannose diminue respectivement de 74%, de 68%, de 38% et de 24% dans les vins d'AP_f à S5.

Le rapport Ara/Gal est caractéristique des PRAGs (Apolinar-Valiente *et al.*, 2014). Ce rapport va évoluer au cours du vieillissement des vins sur lies par la dégradation d'AGPs de type II ou d'arabinanes (Doco *et al.*, 2003) qui ont été libérés dans le moût (Vidal *et al.*, 2001). Le rapport Ara/Gal est compris entre 0,52 et 0,59 dans les vins de base de Pinot meunier 2013. D'autre part, ce rapport diminue de 57% des vins AP_f à S5, au cours du pressurage. Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Ortega-Regules *et al.*, 2006; Guadalupe et Ayestarán, 2007; Apolinar-Valiente *et al.*, 2013; Martínez-Lapuente *et al.*, 2013; Martínez-Lapuente *et al.*, 2016). Cela pourrait être expliqué par une libération plus importante d'AGPs au début du cycle de pressurage. En effet, la composition chimique de la pulpe de la baie de raisin mature varie de la zone intermédiaire à la zone périphérique (Hardy, 1990), la concentration en AGPs étant plus élevée dans la zone intermédiaire de la baie (Vidal *et al.*, 2001).

PS totaux, Mannoprotéines (MPs), Polysaccharides Riches en Arabinose et Galactose (PRAGs) et Rhamnogalacturonane II (RG-II)

Les PRAGs et le RG-II sont les principaux PS de la paroi cellulaire de la baie de raisin (Blouin et Gimberteau, 2000; Vidal *et al.*, 2001) ; ils sont solubilisés et libérés dans le moût (Doco *et al.*, 1995). Environ 80% des AGPs dans les raisins proviennent de la paroi cellulaire de raisin (Vidal *et al.*, 2000; Vidal *et al.*, 2001). Nos résultats montrent que les concentrations en PRAGs et en RG-II sont les plus élevées dans les vins de base en début de cycle de pressurage et diminuent respectivement de 52% et de 47% dans les vins en fin de cycle de pressurage. Cela pourrait être expliqué par la présence d'enzymes pectinolytiques endogènes du raisin (Guadalupe et Ayestarán, 2007) tels que des pectines méthylestérases, des polygalacturonases qui seraient extraites en début de pressurage des raisins, ainsi que par la présence de *Botrytis cinerea* qui peut sécréter des pectinases capables de modifier la structure des parois cellulaires des baies (Francioli *et al.*, 1999;

Gérard, 2014). L'action de ces enzymes pourrait permettre une meilleure extraction des PS dans les moûts comme cela a été observé dans une étude précédente (Comménil *et al.*, 1999). La concentration en PRAGs des vins de Pinot meunier 2013 étudiés est dans la même gamme de valeurs observées dans des vins de base blancs (Apolinar-Valiente *et al.*, 2013; Martínez-Lapuente *et al.*, 2013) et dans des vins de base rouges (Martínez-Lapuente *et al.*, 2016).

La concentration en RG-II varie de 12 à 30 mg/L dans les vins de base de Pinot meunier 2013 et celle-ci est dans la gamme de valeurs observées dans des vins de base rouges (Martínez-Lapuente *et al.*, 2016). Contrairement aux vins analysés dans notre étude, la présence de RG-II n'a pas été mise en évidence dans des vins de base blancs espagnols (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013). Cela pourrait être expliqué par des caractéristiques liées aux cépages étudiés ou à des stades de maturité des raisins différents.

Les MPs sont libérées au cours de la fermentation (Waters *et al.*, 1994). La concentration en MPs est la plus élevée dans le vin AP_f (106 mg/L), puis au cours du pressurage, elle diminue d'environ 24% dans le vin S5. Cela pourrait être lié à la composition initiale des moûts (Guilloux-Bénatier *et al.*, 1995; Rosi et Giovani, 2003; O'Neill *et al.*, 2004; Bindon *et al.*, 2013).

D'après les résultats obtenus, une évolution significative de la concentration en PS totaux des vins de base de Pinot meunier 2013 est observée au cours du cycle de pressurage. La concentration en PS totaux des vins diminue de 41% du vin AP_f (282 mg/L) au vin S5 (167 mg/L) (Figure 33). Des concentrations similaires en PS totaux ont été détectées dans des études précédentes sur des vins de base blancs (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013; Esteruelas *et al.*, 2015) et sur les vins de base rouges (Apolinar-Valiente *et al.*, 2013; Gil *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2016).

L'évolution des pourcentages de chaque famille de PS par rapport aux PS totaux dans les vins, au cours du pressurage, est présentée dans la Figure 31. Les pourcentages en RG-II sont faibles et relativement stables, dans la gamme de 6,3 à 9,5 %, les PRAGs diminuent de 51,7 à 42,2 %, tandis que les MPs augmentent de 37,6 à 48,5% des vins AP_f à S5. Le pourcentage des PRAGs par rapport aux PS totaux dans les vins de base de Pinot meunier 2013 est plus faible que celui observé pour des vins de base d'Albarin, de Viura et de Verdejo (de 75 ± 26%) (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013). Il est intéressant de noter que le taux des PS provenant de la baie de raisin (le PRAGs et le RG-II) est plus élevé que le taux de PS issus de la levure (MPs) dans les vins de base de Pinot meunier 2013. Le pourcentage des PS issus du raisin diminue de 62,4 à 51,6% au cours du cycle de pressurage, tandis que celui des PS levuriens augmente de 37,6 à 48,4% des vins AP_f à S5. Cela pourrait être expliqué par la composition initiale des moûts et par la présence d'enzymes pectinolytiques endogènes dans les moûts.

Composition en oses des OS

Nos résultats montrent que les OS des vins de base de Pinot meunier 2013 sont constitués d'oses similaires à ceux observés dans des études précédentes (Waters *et al.*, 1994; Doco *et al.*, 2003; Vidal *et al.*, 2003; Ayestarán *et al.*, 2004; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Quijada Morín *et al.*, 2014; Apolinar-Valiente *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

Les oses des OS proviennent des parois pecto-cellulosiques des cellules de la baie de raisin tels que le rhamnose, l'arabinose, le galactose, le xylose, l'acide galacturonique et l'acide glucuronique, tandis que le mannose et le glucose sont libérés à partir des PS de levure (MPs). Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Ducasse *et al.*, 2010; Ducasse *et al.*, 2011; Bordiga *et al.*, 2012; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Quijada Morín *et al.*, 2014; Apolinar-Valiente *et al.*, 2015; Doco *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

La présence de xylose, d'acide glucuronique et de 4-OMeA Glc dans les vins indique la présence de traces d'hémicelluloses qui seraient solubilisées à partir des parois cellulaires de la baie de raisin (Doco *et al.*, 2003; Ducasse *et al.*, 2010). Les % molaire de 4-OMeA Glc et du xylitol varient respectivement de 3,4 à 4,3% mol et de 7,7 à 12,9% mol dans les OS des vins de base de Pinot meunier 2013 (Tableau 11). Ces deux oses sont en faibles concentrations dans les OS des vins rouges de Merlot et de Carignan (Ducasse *et al.*, 2010; Quijada Morín *et al.*, 2014) mais ils n'ont pas été détectés dans des vins rouges de Tempranillo et un vin blanc de Chardonnay (Bordiga *et al.*, 2012; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014).

Les teneurs en glucose, en mannose et en xylose sont plus élevées par rapport à celles des autres oses. Au cours du pressurage, leurs teneurs évoluent respectivement de 27,4 à 36,9% mol, de 15,7 à 18,5% mol et de 10,5 à 15,2% mol dans les OS des vins de base de Pinot meunier 2013 (Tableau 11). Au contraire, la teneur en fucose et en acide glucuronique est faible dans les OS des vins de base de Pinot meunier 2013 comme cela a été observée dans des études antérieures menées sur des vins rouges et vins blancs (Bordiga *et al.*, 2012).

Nos résultats ont également montré que la teneur en oses des OS issus de la paroi cellulaire de raisin est plus faible dans les vins en début de pressurage par rapport aux oses provenant de la paroi de la levure (mannose et glucose) (AP_f : 50,2% mol, S2 : 52,8% mol, S3 : 51,7% mol) (Tableau 11).

La concentration en OS totaux dans les vins ne montre aucune tendance claire au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013. La concentration la plus élevée est trouvée dans le vin S3 (139 mg/L) et la plus faible dans le vin S4 (97 mg/L). Ces valeurs sont dans des gammes de concentrations observées précédemment dans un vin blanc (Bordiga *et al.*, 2012).

Les rapports Ara/Gal, Rha/A Gal et (Ara+Gal)/Rha

Le rapport Ara/Gal est caractéristique des structures des PRAGs (Doco *et al.*, 2003; Vidal *et al.*, 2003; Ducasse *et al.*, 2010; Bordiga *et al.*, 2012) et il peut être utilisé pour caractériser les OS dans les vins (Ducasse *et al.*, 2010; Ducasse *et al.*, 2011). Un rapport Ara/Gal élevé dans les vins correspond à une libération importante d'arabinoses ou d'OS riches en arabinose provenant des parois pecto-cellulosiques de la baie de raisin (Vidal *et al.*, 2003). Nos résultats montrent que ce rapport varie de 2,29 à 3,47 du vin S1 au vin S3. Ces résultats pourraient suggérer que les OS présents dans les vins de base au début du pressurage de raisins Pinot meunier 2013 sont plus riches en arabinose. Des rapports Ara/Gal similaires ont été observés dans des études antérieures réalisées sur des vins rouges (Ducasse *et al.*, 2010; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

Le rapport Rha/A Gal permet d'estimer la richesse relative des OS en homogalacturonanes par rapport aux structures de type rhamnogalacturonanes (Arnous et Meyer, 2009; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014). Ce rapport est compris entre 0,53 et 0,72 dans les vins de Pinot meunier 2013 issus d'un fractionnement au pressurage. Ces résultats montrent la présence majeure de structures homogalacturonanes dans les OS des vins de base de Pinot meunier 2013.

Le rapport (Ara+Gal)/Rha a été calculé pour estimer l'importance relative des chaînes latérales substituant les zones rhamnogalacturonanes libérées dans le milieu par dégradation par des enzymes pectinolytiques. Ce rapport est le plus faible dans le vin S5 (4,46) et est le plus élevé dans le vin S1 (6,90) par rapport à celui des autres vins de base. Cela pourrait être expliqué par la présence d'enzymes pectinolytiques endogènes du raisin (Guadalupe et Ayestarán, 2007) tels que des pectine méthylestérases, des polygalacturonases, ainsi que par la présence de *Botrytis cinerea* qui peut sécréter des pectinases qui sont capables de modifier la structure RG-II des parois cellulaires des baies (Francioli *et al.*, 1999; Gérard, 2014) qui permettent une meilleure extraction des arabinoses et galactoses du RG-II dans les moûts comme cela a été observé dans une étude précédente (Comménil *et al.*, 1999). Ces valeurs sont plus élevées que celles observées dans des études précédentes réalisées sur des vins rouges (Ducasse *et al.*, 2010; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Apolinar-Valiente *et al.*, 2015) mais sont dans les mêmes gammes de valeurs que celles obtenues pour des vins de base rouges (Martinez-Lapuente *et al.*, 2016). Cela indique que les OS des vins de base de Pinot meunier 2013 contiennent une quantité plus importante d'oses provenant des chaînes latérales des PS de type RG.

Composition en acides aminés des PS

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que la sérine, la thréonine et l'alanine sont les acides aminés majeurs de la partie aglycone des fractions PS des vins de Pinot meunier 2013. La Ser, la Thr et l'Ala représentent respectivement de 15,7 à 18,7%, de 11,7 à 13,2% et de 9,8 à 11% des

acides aminés totaux dans les vins de Pinot meunier 2013. Ces acides aminés sont constitutifs des MPs (Frevert et Ballou, 1985; Waters *et al.*, 1994; Marchal *et al.*, 1996) et sont également trouvés dans la partie protéique des AGPs de vin de Champagne (Doco et Williams, 2013).

Nos résultats montrent que la valeur (% des acides aminés totaux) en hydroxyproline et en lysine diminue respectivement de 9,2 à 6,3% et de 4,5 à 2,9% des acides aminés totaux, tandis que celle en glycine et en Asx augmente respectivement de 5,9 à 8,1% et de 7,5 à 9,1% des acides aminés totaux du vin S1 au vin S5. Les acides aminés des AGPs de raisin sont caractérisés par une présence importante d'Hyp, de Ser, d'Ala et de Gly (Blouin et Gimberteau, 2000). La chaîne polypeptidique des AGPs représente généralement de 1 à 10% des macromolécules des vins et l'Hyp des AGPs représente jusqu'à 22% d'acides aminés totaux (Gaspar *et al.*, 2001). Dans nos résultats, l'Hyp représente de 5,0 à 9,2% des acides aminés totaux dans les vins de base de Pinot meunier 2013.

Composition en acides aminés des OS

La composition en acides aminés des fractions OS (Tableau 11) indique que l'acide aspartique et l'asparagine (Asx), et l'acide glutamique et la glutamine (Glx) sont les acides aminés majeurs de la partie aglycone des fractions OS des vins de Pinot meunier 2013. Leur valeur varie respectivement de 13,4 à 14,4% et de 15,3 à 17,1% du vin AP_f au vin S5.

L'Hyp représente de 1,4 à 2,9% des acides aminés totaux, ce qui pourrait être corrélée à la présence d'AGPs dans les vins de base de Pinot meunier 2013.

D'après les résultats obtenus, la concentration en acides aminés des fractions OS est plus élevée que celle des fractions PS dans les vins de Pinot meunier 2013 (Figure 38). La méthionine et la méthionine sulfoxyde sont présentes dans les fractions OS des vins de base, tandis qu'elles sont seulement présentes dans les fractions PS des vins AP_f et S5.

3. Conclusions

L'étude de la composition des moûts fractionnés au cours du cycle de pressurage permet de corréler celle-ci avec la localisation des différentes zones internes de la baie de raisin. Les jus d'auto-pressurage, qui s'écoulent lors du chargement du pressoir avant sa mise en route méritent d'être écartés et mis en rebêche. Ces moûts peuvent contenir de l'eau en cas de pluie, d'autre part ils "lessivent" une grande partie des impuretés présentes sur les raisins. Nous avons pu montrer que leur composition est différente des autres fractions. Les cycles du pressurage conduisent à l'obtention de moûts puis de vins de base de composition chimique et de qualité différente, ce qui pourrait influencer les propriétés organoleptiques du produit final, le Champagne. Lors du

pressurage, les composés de la zone externe de la baie de raisin étant moins solubles, ceux-ci sont plus difficilement extraits que ceux de la zone interne de la baie.

Nos résultats montrent des différences quantitatives et qualitatives au niveau de la composition protéique des vins issus des moûts de Pinot meunier 2013 et du fractionnement au pressurage. Ces différences pourraient être partiellement expliquées par des activités protéolytiques provenant de la baie de raisin ou du *Botrytis cinerea*.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent également clairement l'influence du fractionnement au pressurage des jus de raisins, à l'échelle d'un pressoir industriel, sur la composition chimique, les paramètres œnologiques, la composition en protéines, en PS et en OS des moûts et vins de base de Pinot meunier 2013. Le Champagne doit en partie son image de marque à l'élégance de son effervescence et à ses propriétés moussantes caractéristiques, jugées par le consommateur. La moussabilité d'un vin dépend de sa concentration en protéines (Abdallah *et al.*, 2017; Brissonnet and Maujean, 1993; Cilindre *et al.*, 2007, 2008; Maujean *et al.*, 1990; Marchal *et al.*, 1996, 2001, 2006) et dépend également de la teneur et de la composition en polysaccharides (Abdallah *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2011; Martínez Lapuente *et al.*, 2013, 2015; Girbau *et al.*, 2002). Les données obtenues pourraient permettre de mettre en évidence des marqueurs ou indicateurs susceptibles d'orienter le travail du vinificateur concernant par exemple la sélection des moûts les plus qualitatifs, et ce avec une mise en relation avec les propriétés organoleptiques des vins, telles que les propriétés moussantes des Champagnes.

Tableau 14. Evolution de caractéristiques œnologiques des moûts et vins au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013

	Pinot meunier 2013	
	Moûts	Vins
pH	↗	↗
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	↘	↘
Acide malique (g/L)	↘	↘
Acide tartrique (g/L)	↘	↘
Acide gluconique (mg/L)	↘	-
Sucres (g/L)	stable	-
Calcium (mg/L)	↗	↗
Potassium (mg/L)	↗	↗
TAV (% vol)	-	stable
Protéines totales (% intensité par rapport à S1)	↘	↘
PS totaux (mg/L)	-	↘
MPs (mg/L)	-	↘
PRAGs (mg/L)	-	↘
RG-II (mg/L)	-	↘
Ara/Gal des PS	-	↘
OS totaux (mg/L)	-	il n'y a pas de tendance générale claire
Ara/Gal des OS	-	AP _f ↗ S ₃ ↘ S ₅
Rha/A Gal des OS	-	↗
(Ara+Gal)/Rha des OS	-	↘
Acides aminés totaux des PS (mg/L)	-	↗
Acides aminés totaux des OS (mg/L)	-	↘

CHAPITRE IV

**IMPACT DE LA MATURITÉ DES BAIES DE RAISIN ET
DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE SUR LA
COMPOSITION DES MOÛTS ET DES VINS**

Ce quatrième chapitre a pour objectif d'étudier conjointement l'effet de la maturité des raisins et du fractionnement des jus au pressurage (presseur de laboratoire) sur la composition des moûts et des vins de base, étudiés sur deux cépages : Chardonnay et Pinot meunier (vendange 2015). L'étude montre les changements de composition des moûts et des vins issus de ces moûts tout au long du pressurage, pour les 3 stades de maturité des raisins Chardonnay (CHY I, CHY II, CHY III) et les 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier (PM I, PM II, PM III, PM IV), ainsi que les corrélations entre les différents paramètres œnologiques. La partie qui s'intéresse aux caractéristiques œnologiques des vins permettra la compréhension des changements en protéines sous l'impact de la maturité du raisin Chardonnay et Pinot meunier 2015, et au cours du pressurage (Liu *et al.*, Influence of grape berry maturity on juice and base wine compositions and foaming properties in Champagne region. *Soumise en novembre 2017 à Food Research International*).

1. Les moûts et vins de Chardonnay de la vendange 2015

1.1. Les moûts

1.1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts

La composition et le rapport sucres/acidité totale (S/A.T.), aussi appelé indice de maturité, dans les moûts de Chardonnay 2015 sont présentés dans la Tableau 15 et le Figure 39.

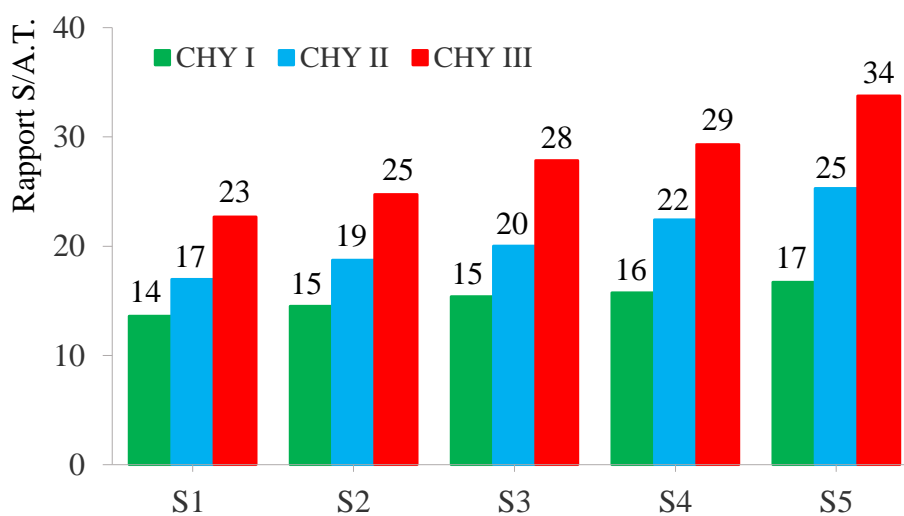


Figure 39. Comparaison du rapport sucres/acidité totale (S/A.T.) des moûts issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Tableau 15. Composition des moûts durant le pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
S1	2,78	9,9	22	8,3	8,2	134,5	139	53	86	126	868	14
S2	2,80	9,3	22	7,7	8,1	135,0	134	53	81	124	854	15
S3	2,82	8,6	17	7,1	8,0	132,2	121	50	71	121	841	15
S4	2,84	8,3	10	6,8	7,8	130,6	121	51	70	124	842	16
S5	2,88	7,6	23	6,2	7,7	127,0	117	51	66	129	927	17
S1	2,78	9,3	10	7,0	8,6	157,8	79	24	55	108	838	17
S2	2,80	8,4	13	6,7	8,1	157,3	93	29	65	94	879	19
S3	2,84	7,9	13	6,0	7,6	158,1	95	33	62	95	911	20
S4	2,87	7,1	17	5,3	7,4	159,1	101	36	64	101	864	22
S5	2,93	6,3	13	4,7	7,0	159,4	101	37	63	105	853	25
S1	2,81	7,4	6,0	5,2	8,6	167,8	177	71	106	89	891	23
S2	2,88	6,9	12	5,0	8,4	170,6	185	69	116	86	932	25
S3	2,92	6,3	12	4,4	7,7	175,3	176	64	113	84	796	28
S4	2,97	5,8	20	4,2	7,9	169,9	169	66	103	91	880	29
S5	3,02	5,1	18	3,8	7,5	172,2	169	59	110	102	897	34

Le rapport S/A.T. augmente au cours du pressurage des raisins, pour les 3 stades de maturité : sa valeur est la plus faible dans le moût S1 et est la plus élevée dans le moût S5. Par exemple, au stade de maturité CHY III, ce rapport passe de 23 à 34 du moût S1 CHY III au moût S5 CHY III. De plus, le rapport S/A.T. augmente logiquement selon la maturité des raisins. Par exemple, pour le moût S1, ce rapport est plus élevé dans le moût S1 CHY III (23) que dans les moûts S1 CHY II (17) et S1 CHY I (14).

Pour les 3 stades de maturité, l'acidité totale diminue au cours du pressurage et également au cours de la maturation des raisins (Tableau 15). Ces valeurs sont les plus élevées dans les fractions prélevées au début du pressurage et les plus faibles dans les fractions en fin du pressurage. Par exemple, au stade de maturité I (CHY I), l'acidité totale diminue de 9,9 à 7,6 g/L H₂SO₄ du moût S1 CHY I au moût S5 CHY I (-23,2%). Selon la maturité des raisins, par exemple, dans le moût S3, l'acidité totale diminue de 8,6 g/L H₂SO₄ (S3 CHY I) à 6,3 g/L H₂SO₄ (S3 CHY III), soit -26,8%.

Tandis que l'évolution de la concentration en acide malique suit les variations de l'acidité totale, la teneur en acide tartrique est, dans cet exemple, stable au cours de la maturation des raisins. Cependant, sa concentration diminue au cours du pressurage. Par exemple, au stade de maturité III, la concentration en acide tartrique diminue de 13% du moût S1 CHY III au moût S5 CHY III.

Le pH augmente au cours du pressurage et également au cours de la maturation des raisins. Au stade de maturité III (CHY III), sa valeur augmente de 0,21 unité du moût S1 CHY III au moût S5 CHY III. Dans le moût S3, selon la maturité des raisins, le pH augmente de 1,0 unité du stade de maturité I (S3 CHY I) au stade de maturité III (S3 CHY III).

Tandis que la concentration en sucres aux 3 stades de maturité du Chardonnay 2015 est stable au cours du pressurage des raisins, sa concentration augmente suivant la maturité des raisins. Par exemple, dans le moût S1, sa valeur est 167,8 g/L dans le moût S1 CHY III par rapport à celle est 134,5 g/L dans le moût S1 CHY I.

Les concentrations en potassium et en calcium sont stables au cours du pressurage. Leurs concentrations sont respectivement comprises dans la gamme de 84 à 102 mg/L et de 796 à 932 mg/L dans les moûts au stade de maturité III. Au cours de la maturité, tandis que la concentration en potassium est stable, celle en calcium diminue. Par exemple, dans le moût S1, sa valeur diminue de 126 à 89 mg/L du moût S1 CHY I au moût S1 CHY III.

Pour les trois stades de maturité, la concentration en azote assimilable varie au cours du pressurage des raisins. Tandis qu'aux stades de maturité I et maturité III, sa concentration diminue de 16% et de 5%, celle du stade de maturité III augmente de 28% du début à la fin du pressurage des raisins. Selon la maturité des raisins, la concentration en azote assimilable diminue du stade de maturité I au stade de maturité II, puis augmente au stade de maturité III. Par exemple, dans le moût S1, sa valeur est de 139 mg/L dans S1 CHY I. Elle diminue ensuite de 43% dans le moût S1 CHY II, puis augmente de 79 à 177 mg/L du moût S1 CHY II au moût S1 CHY III. De précédentes études ont montré qu'il y a une accumulation d'azote de la véraison à la fin de maturation du raisin (Blouin et Gimberteau, 2000). L'évolution de la concentration en azote entre le stade de maturité I et le stade de maturité II pourrait être expliquée par l'impact des conditions culturales, de la nature des sols et du cépage sur la maturation des raisins (Blouin et Gimberteau, 2000). Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Bell, 1994; Garde-Cerdan *et al.*, 2009; Bindon *et al.*, 2013).

Au cours du pressurage des raisins dans les moûts de S1 à S4, la concentration en acide gluconique du stade de maturité I diminue de 55%, tandis que celle des stades de maturité II et III augmente respectivement de 70% et de 233%. L'évolution de leur concentration est inversée pour les moûts S4 et S5. Cela pourrait être expliqué par des différences de caractéristiques physiques et physiologiques (la division cellulaire et l'accumulation de composition) des raisins au cours de la maturation (Szczeniak, 2002; Chaib *et al.*, 2007; Rienth *et al.*, 2014). Suivant la maturité des raisins, la concentration en acide gluconique diminue ; par exemple dans le moût S1, sa valeur est plus élevée dans le moût S1 CHY I (22 mg/L) par rapport aux moûts S1 CHY II (10 mg/L) et S1 CHY III (6 mg/L). Cependant, la concentration en acide gluconique dans le moût S4 CHY I est plus faible par rapport aux autres stades de maturité (S4 CHY II et S4 CHY III) ; en effet, on observe une augmentation de la concentration en acide gluconique au cours de la maturation des raisins.

1.1.2. Corrélations entre les paramètres œnologiques des moûts

Le coefficient de corrélation de Pearson est un indice statistique qui exprime l'intensité et le sens de la relation linéaire entre deux variables quantitatives. Les corrélations ont été calculées en utilisant le logiciel Excel qui permet de mesurer l'intensité de la relation entre les paramètres œnologiques des moûts de Chardonnay 2015.

1.1.2.1. Le stade de maturité I (CHY I)

D'après les résultats obtenus (Tableau 16), nous observons que la concentration en acides (excepté l'acide gluconique, qui n'est pas produit par le raisin mais par *Botrytis*), le pH, la concentration en sucres et le rapport S/A.T. sont les paramètres les plus corrélés entre eux, au cours du pressurage des raisins. La concentration en acide gluconique ainsi qu'en azote ammoniacal, en calcium, en potassium montrent de faibles corrélations avec les autres paramètres œnologiques des moûts, au cours du pressurage.

Au cours du pressurage, la concentration en azote assimilable est fortement corrélée avec l'acidité totale ($R^2 = 0,929$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,928$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,995$) et avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,921$).

De plus, nos résultats montrent que la teneur en azote alpha-aminé est fortement corrélée avec l'acidité totale ($R^2 = 0,960$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,960$), avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,954$), le pH ($R^2 = 0,867$), et aussi avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,870$), au cours du pressurage des raisins CHY I.

1.1.2.2. Le stade de maturité II (CHY II)

Les corrélations entre les caractéristiques œnologiques des moûts de CHY II sont présentées dans le Tableau 17. Au cours du pressurage des raisins CHY II, le pH est fortement corrélé avec l'acidité totale ($R^2 = 0,963$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,980$), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,931$), avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,987$) et avec la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,850$).

Nos résultats montrent également que l'acidité totale est fortement corrélée avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,971$), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,970$), la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,936$) et avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,984$), au cours du pressurage.

Une forte corrélation entre la concentration en acide malique et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,943$) est observée. La concentration de ces deux acides est fortement corrélée avec la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,903$, $R^2 = 0,987$, respectivement) et le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,977$, $R^2 = 0,927$, respectivement), au cours du pressurage des raisins CHY II.

1.1.2.3. Le stade de maturité III (CHY III)

Le Tableau 18 présente les corrélations pour les caractéristiques œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins CHY III. Nos résultats montrent que le pH est fortement corrélé avec l'acidité totale ($R^2 = 0,985$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,952$) et la concentration en acide gluconique ($R^2 = 0,854$).

Au cours du pressurage des raisins CHY III, l'acidité totale est fortement corrélée avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,980$) et la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,871$). De plus, la concentration en azote ammoniacal est fortement corrélée avec la concentration en acide tartrique et la concentration en acide malique ($R^2 = 0,919$ et $R^2 = 0,984$, respectivement). Une forte corrélation a également été trouvée entre la concentration en acide malique et en acide tartrique ($R^2 = 0,917$).

De plus, le rapport S/A.T. est fortement corrélé avec le pH ($R^2 = 0,958$), l'acidité totale ($R^2 = 0,989$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,972$), la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,925$) et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,866$).

Tableau 16. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,968 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,019	0,062	1									
Acide malique (g/L)	0,963 ^a	0,999 ^a	0,068	1								
Acide tartrique (g/L)	0,956 ^a	0,945 ^a	0,104	0,946 ^a	1							
Sucres (g/L)	0,943 ^a	0,883 ^b	0,015	0,868 ^b	0,898 ^b	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,820	0,929 ^a	0,157	0,928 ^a	0,825	0,759	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,409	0,561	0,249	0,555	0,419	0,415	0,802	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,867 ^b	0,960 ^a	0,139	0,960 ^a	0,870 ^b	0,793	0,990 ^a	0,742	1			
Calcium (mg/L)	0,202	0,079	0,260	0,073	0,148	0,274	0,003	0,085	0,011	1		
Potassium (mg/L)	0,370	0,223	0,383	0,209	0,232	0,441	0,076	4E-4	0,101	0,829	1	
Sucres/Acidité totale	0,964 ^a	0,998 ^a	0,054	0,999 ^a	0,930 ^a	0,864 ^b	0,921 ^a	0,546	0,954 ^a	0,076	0,223	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 17. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,963 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,250	0,401	1									
Acide malique (g/L)	0,980 ^a	0,971 ^a	0,364	1								
Acide tartrique (g/L)	0,931 ^a	0,970 ^a	0,403	0,943 ^a	1							
Sucres (g/L)	0,835	0,763	0,280	0,883 ^b	0,703	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,694	0,847	0,665	0,747	0,872 ^b	0,460	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,850 ^b	0,936 ^a	0,568	0,903 ^a	0,972 ^a	0,672	0,936 ^a	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,232	0,400	0,548	0,256	0,415	0,053	0,739	0,496	1			
Calcium (mg/L)	0,025	1E-4	0,115	0,019	0,008	0,180	0,120	0,027	0,471	1		
Potassium (mg/L)	4E-4	0,005	0,069	8E-6	0,049	0,062	0,121	0,072	0,250	0,785	1	
Sucres/Acidité totale	0,987 ^a	0,984 ^a	0,310	0,977 ^a	0,927 ^a	0,816	0,747	0,866 ^b	0,299	0,016	0,002	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 18. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY III 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,985 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,854 ^b	0,789	1									
Acide malique (g/L)	0,952 ^a	0,980 ^a	0,734	1								
Acide tartrique (g/L)	0,825	0,849	0,535	0,917 ^a	1							
Sucres (g/L)	0,228	0,211	0,069	0,277	0,551	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,499	0,587	0,437	0,642	0,469	0,009	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,825	0,871 ^b	0,464	0,889 ^b	0,919 ^a	0,425	0,419	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,008	0,021	0,062	0,029	3E-4	0,286	0,491	0,007	1			
Calcium (mg/L)	0,447	0,527	0,282	0,449	0,250	0,010	0,458	0,459	0,091	1		
Potassium (mg/L)	0,010	0,016	0,001	0,068	0,221	0,491	0,071	0,076	2E-4	0,120	1	
Sucres/Acidité totale	0,958 ^a	0,989 ^a	0,701	0,972 ^a	0,866 ^b	0,237	0,564	0,925 ^a	0,009	0,567	0,019	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.1.3. Cinétiques fermentaires des moûts

La durée de fermentation alcoolique (FA) des vins des 3 stades de maturité est présentée dans la Figure 40.

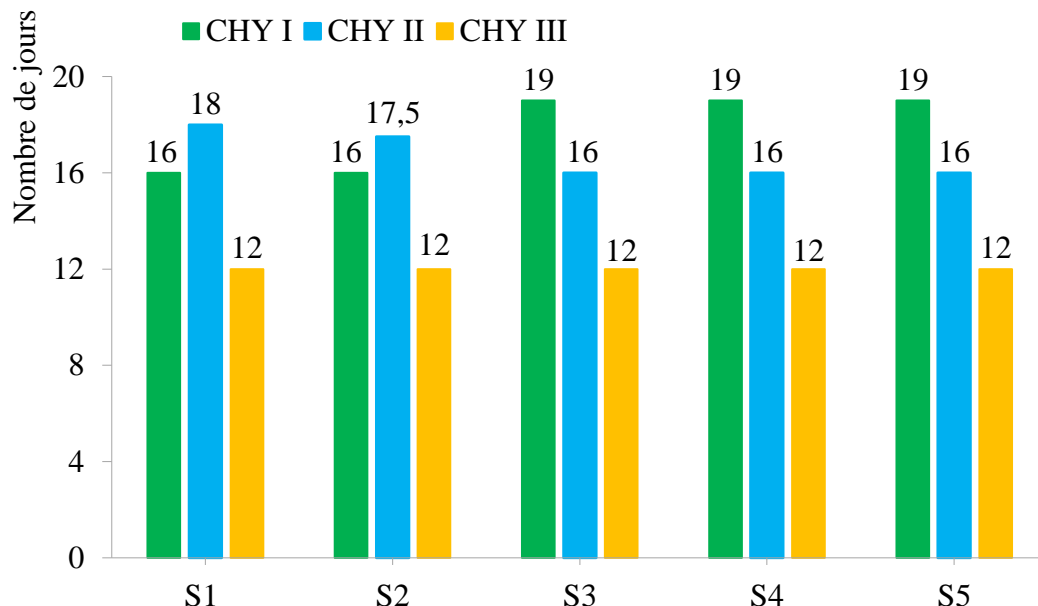


Figure 40. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Nos résultats montrent que la durée de fermentation alcoolique des moûts de CHY III est stable (12 jours), au cours du pressurage des raisins, celle des moûts de CHY I augmente de 16 jours (S1 CHY I) à 19 jours (S5 CHY I), et celle des moûts de CHY II diminue de 18 jours (S1 CHY II) à 16 jours (S5 CHY II).

La durée de FA a tendance à diminuer avec l'augmentation de la maturité des raisins. Dans le vin S1, la FA est par exemple de 12 jours pour le moût S1 CHY III et de 16 jours pour le moût S1 CHY I. Cependant, elle est plus longue pour les moûts de CHY II par rapport aux moûts de CHY I, du moût AP au moût S2.

1.1.4. Discussion sur les moûts

Le contenu en sucres est un indicateur critique pour suivre l'évolution de la maturité des raisins et pour estimer la date de vendange (Deloire, 2011). Nos résultats montrent que la concentration en sucres augmente au cours de la maturation des raisins Chardonnay 2015. Sa valeur augmente de 25 à

36% dans les moûts de CHY III par rapport à celle des moûts de CHY I. L'augmentation de la teneur en sucres dans la baie de raisin a déjà été largement étudiée, de la véraison jusqu'à la maturité (Hulme, 1954; Coombe, 1992; Topalovic et Mikulic-Petkovsek, 2010; Gil *et al.*, 2012). La teneur en sucres se stabilise ensuite avant d'augmenter lentement sous l'effet de la perte en eau de la baie au cours de la maturation (Figure 41) (Coombe et Nii, 1983; Hrazdina *et al.*, 1984; Bindon *et al.*, 2008; Deloire, 2011; Reynier, 2012). Nos résultats montrent que la concentration en sucres des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015 est stable dans les moûts, au cours du pressurage. Sa valeur dans les moûts de CHY III est de 167,8 à 175,3 g/L comme cela a été observée dans de précédentes études (Lemperle, 1978; Yokotsuka, 1990; Darias-Martin *et al.*, 2004; Reynier, 2012; Bindon *et al.*, 2013; Lasanta *et al.*, 2014).

Le rapport S/A.T., ou indice de maturité, qui est un indicateur de l'évolution de la maturité des raisins (Dupuch, 1997) est une valeur importante pour le choix d'une date de vendange (Guelfat-Reich et Safran, 1971; László et Saayman, 1991; Jayasena et Cameron, 2008). Ce rapport est basé sur l'évolution de la pulpe (sucres, acidité) et peut être corrélé avec la qualité des vins au futur (Hancock, 1994). Comme pour l'évolution de la teneur en sucres, nos résultats montrent que le rapport S/A.T. augmente au cours de la maturation des raisins et également lors du pressurage des raisins Chardonnay 2015. Il est le plus faible dans le moût S1 CHY I (14) et est le plus élevé dans le moût S5 CHY III (34). Une valeur de S/A.T. entre 35 et 50 représente une bonne qualité de vendange pour certaines régions (Bourgogne, Frontignan) alors que ces valeurs sont inférieures (bonne qualité) dans des régions telles que la Clairette de Die ou la Champagne (Dupuch, 1997; Reynier, 2012); en Bourgogne, la valeur de cet indice varie de 22 à 55 selon les années, les cépages, les terroirs et le type de vin; en Champagne, cet indicateur se trouve généralement compris entre 17 et 25 (Reynier, 2012). Au cours de la maturation des raisins, il y a une augmentation de la concentration en sucres et une diminution l'acidité totale (Coombe et Nii, 1983; Hrazdina *et al.*, 1984; Reynier, 2012). Cela entraîne une augmentation du rapport S/A.T. (Reynier, 2012), comme cela a été déjà observé dans une précédente étude (Jones *et al.*, 2014).

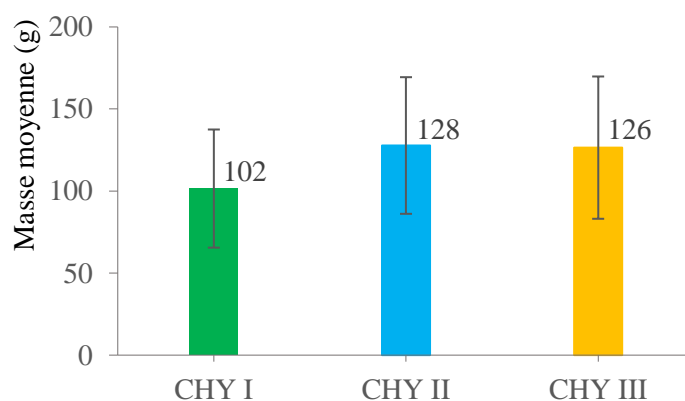


Figure 41. Masse moyenne des grappes prélevées au cours de la maturation des raisins Chardonnay 2015

Alors que le pH augmente, l'acidité totale et la teneur en acide malique diminuent respectivement de 25 à 33% et de 35 à 39% dans les moûts de S1 à S5 selon la maturité des raisins Chardonnay prélevés sur la parcelle étudiée en 2015. Les variations d'A.T. dans la baie de raisin s'expliquent par le catabolisme de l'acide malique (Ford, 2012). De plus, la respiration et une contribution des cations, notamment du potassium, en relation avec les conditions climatiques, contribuent à la dégradation de cet acide (Peynaud et Ribéreau-Gayon, 1971).

Il est important de noter que l'évolution de l'acidité totale est la même que celle de la concentration en acide malique, au cours de la maturation et également au cours du pressurage des raisins Chardonnay. Cela pourrait être expliqué par le fait que l'acidité totale des raisins dépend essentiellement des acides tartrique et malique, responsables de 90% de cette acidité (Conde *et al.*, 2007). Comme la concentration en acide tartrique est relativement stable, l'acidité totale va largement dépendre de la concentration en acide malique au cours de la maturation des raisins Chardonnay 2015.

La teneur en acides aminés a été considérée par certains auteurs comme un critère de maturité car elle augmente au cours de la maturation (Du Plessis, 1983). L'azote assimilable représente l'azote fermentescible par les levures au cours de la fermentation alcoolique. Nos résultats montrent que la concentration en azote alpha-aminé et en azote ammoniacal aux stades de maturité I et III diminue ; celle en azote assimilable augmente dans les moûts au cours du pressurage de S1 à S5. Suivant la maturité des raisins Chardonnay 2015, l'évolution de la concentration en azote assimilable, en azote alpha-aminé et en azote ammoniacal est la même ; leurs concentrations diminuent du stade de maturité I au stade de maturité II et augmentent fortement au stade de maturité III.

De précédentes études ont montré qu'il y a une accumulation d'azote alpha-aminé et d'azote ammoniacal de la véraison à la fin de maturation du raisin (Blouin et Gimberteau, 2000). L'évolution de la concentration en azote alpha-aminé et en azote ammoniacal entre le stade de maturité I et le stade de maturité II pourrait être expliquée par l'impact des conditions culturales, de la nature des sols et du cépage sur la maturation des raisins (Blouin et Gimberteau, 2000). Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Bell, 1994; Garde-Cerdan *et al.*, 2009; Bindon *et al.*, 2013).

Au cours du développement du raisin, les quantités de cations par baie augmentent et parmi les éléments minéraux, le potassium joue le rôle le plus important. Il intervient directement sur le pH dans le moût. Sa teneur augmente au cours de la maturation, mais avec des fluctuations (Pasquier, 2014). Les baies de raisin à maturité présentent 15 fois plus de potassium et deux fois plus de calcium par rapport aux baies vertes (Donèche et Chardonnet, 1992).

Nos résultats sur le cépage Chardonnay 2015 montrent que la concentration en potassium est stable au cours du pressurage, et également selon la maturité des raisins. Par exemple, sa valeur est de 868 mg/L pour le moût S1 CHY I et de 891 mg/L pour le moût S1 CHY III. La concentration en calcium est stable au cours du pressurage mais elle diminue au cours de la maturation du raisin. Par exemple, sa valeur diminue de 29 à 31% du stade de maturité I au stade de maturité III dans les moûts de S1 à S5. La diminution du calcium au cours de la maturation (Cabanne et Donèche, 2001; Kurt *et al.*, 2017) semble nécessaire à la solubilisation et à la dépolymérisation de la pectine pariétale, dégradée alors par la polygalacturonase (Cabanne et Donèche, 2001).

D'autre part, la concentration en acide gluconique diminue au cours de la maturation des raisins Chardonnay 2015. Par exemple, pour l'échantillon S1, sa valeur diminue de 73% du moût S1 CHY I au moût S1 CHY III. La teneur en acide gluconique augmente généralement au cours de la maturation du raisin (McClellan et Hewitt, 1973 ; Blouin et Gimberteau, 2000). Nos résultats pourraient être expliqués par le temps particulièrement sec au cours de la période de prélèvement, ou le choix « orienté » des grappes les plus saines possibles.

Nos résultats montrent qu'il y a plus de fortes corrélations pour les moûts de CHY I (24) que pour les moûts de CHY II (18) et de CHY III (13). Il est intéressant de noter que l'indice de maturité (S/A.T.) est fortement corrélé avec le pH, l'acidité totale, la concentration en acide malique, la concentration en acide tartrique, quel que soit le stade de maturité des raisins Chardonnay en 2015. Cette indice est également fortement corrélé avec la concentration en sucres ($R^2 = 0,864$), la concentration en azote assimilable ($R^2 = 0,921$) et la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,954$) des moûts de CHY I, et avec la concentration en azote ammoniacal des moûts de CHY II ($R^2 = 0,866$) et de CHY III ($R^2 = 0,925$).

La durée de la fermentation alcoolique des moûts de S1 à S5 des stades de maturité I (de 16 à 19 jours) et de maturité II (de 16 à 18 jours) est plus longue que celle du stade de maturité III (12 jours). Cela pourrait être expliqué par le fait que les moûts de CHY III sont riches en composés majeurs pour la FA, tels que l'azote assimilable, les sucres, les minéraux, et ont un pH plus élevé (qui n'est toutefois que de 2,81 à 3,02) plus favorable au développement des levures (Sablayrolles et Salmon, 2009). De plus, les sulfites sont ajoutés à des pH différents ce qui peut avoir un impact sur la cinétique fermentaire des moûts au cours du pressurage (Eschenbruch, 1974 ; Herrero *et al.*, 2003).

1.2. Les vins

1.2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins

La composition des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay est reportée dans le Tableau 19.

L'acidité totale des vins, pour les 3 stades de maturité, diminue au cours du pressurage et également au cours de la maturation des raisins. Sa valeur est la plus élevée dans les vins issus du début de pressurage et la plus faible dans les vins issus de la fin du pressurage. Par exemple, au stade de maturité I, l'acidité totale diminue de 9,5 à 7,7 g/L H₂SO₄ du vin S1 CHY I au vin S5 CHY I. Selon la maturité des raisins, sa valeur diminue de 9,5 g/L H₂SO₄ (S1 CHY I) à 7,5 g/L H₂SO₄ (S1 CHY III).

Alors que l'évolution de la concentration en acide malique dans les vins est la même que celle de l'acidité totale, la concentration en acide tartrique des vins S1 CHY III et S2 CHY III est plus élevée que celle des vins S1 CHY I et S2 CHY I. Cependant, cette tendance est inversée du vin S3 au vin S5. La concentration en acide tartrique des vins diminue au cours du pressurage ; par exemple, au stade de maturité III (CHY III), elle diminue de 6,05 à 3,50 g/L du vin S1 CHY III au vin S5 CHY III (- 42%).

Le pH des vins augmente au cours du pressurage et suivant la maturité des raisins. Par exemple, le pH du CHY I augmente du vin S1 CHY I (2,64) au vin S5 CHY I (2,78), comme celui du CHY III qui augmente du vin S1 CHY III (2,80) au vin S5 CHY III (2,91).

La concentration en potassium dans les vins S1, S2 et S3 des 3 stades de maturité est stable. Cependant, entre les vins S3 à S5, la concentration en K⁺ des vins de CHY I augmente de 23%, et celle des vins de CHY II et CHY III diminuent respectivement de 16% et de 9%.

Pour les 3 stades de maturité, la concentration en calcium des vins, augmente légèrement au cours du pressurage mais diminue selon la maturité des raisins. Par exemple, pour les vins du stade de maturité I, sa concentration augmente de 99 à 113 mg/L du vin S1 CHY I au vin S5 CHY I, et celle du stade de maturité III augmente de 82 mg/L (S1 CHY III) à 90 mg/L (S5 CHY III).

Pour les 3 stades de maturité, la concentration en azote alpha-aminé des vins diminue au cours du pressurage et augmente suivant la maturité des raisins. Par exemple, pour les vins au stade de maturité III, sa valeur diminue de 16 à 11 mg/L du vin S1 CHY III au vin S5 CHY III. Les concentrations dans les vins S1 CHY I et S5 CHY I sont respectivement de 12 et 9 mg/L.

La concentration en acide gluconique au stade de maturité I diminue de 19% du vin S1 CHY I au vin S5 CHY I. Au stade de maturité II, elle augmente de 53% entre S1 CHY II et S5 CHY II. Au stade de maturité III, une plus faible concentration est trouvée dans le vin S3 CHY III (6 mg/L) par rapport aux autres vins (de 7,5 à 9,5 mg/L).

Tableau 19. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)
S1	2,64	9,50	13,5	6,45	5,75	0,17	427,0	99,0	6,40	12,0
S2	2,64	9,00	11,0	6,10	5,40	0,17	402,0	98,5	5,60	11,0
S3	2,74	8,30	12,0	5,60	5,40	0,17	400,0	105,0	2,90	10,0
S4	2,76	7,90	11,0	5,20	5,10	0,23	423,0	113,0	2,70	10,0
S5	2,78	7,70	11,0	4,60	5,20	0,28	527,0	113,0	2,10	9,0
S1	2,64	8,90	8,5	5,75	4,85	0,25	457,5	81,0	2,60	12,0
S2	2,71	8,40	8,5	5,45	4,95	0,22	481,5	79,5	1,05	12,0
S3	2,76	7,60	11,0	5,00	4,80	0,26	456,0	80,0	5,90	12,0
S4	2,79	7,00	9,0	4,30	4,70	0,21	382,0	87,0	6,80	10,0
S5	2,84	6,20	13,0	3,70	4,20	0,32	386,0	94,0	5,90	10,0
S1	2,80	7,50	9,5	4,30	6,05	0,20	523,5	82,0	2,30	16,0
S2	2,84	7,15	7,5	4,10	5,55	0,24	539,5	76,5	2,80	15,5
S3	2,89	6,90	6,0	3,80	4,60	0,32	536,0	68,0	2,50	14,0
S4	2,89	6,10	8,0	3,40	4,60	0,26	508,0	77,0	3,20	12,0
S5	2,91	5,70	9,0	3,00	3,50	0,33	478,0	90,0	3,70	11,0

L'acidité volatile des vins de CHY I, CHY II et CHY III augmente respectivement de 65%, 28% et 65% dans les vins au cours du pressurage. Les vins issus du stade de maturité I ont une acidité volatile moins élevée que les vins provenant du stade de maturité III. Par exemple, sa valeur est 0,17 g/L H₂SO₄ dans le vin S3 CHY I et 0,32 g/L H₂SO₄ dans le vin S3 CHY III. L'acidité volatile est un paramètre important de la qualité des vins. Par ce terme, on désigne toutes les formes (libres et salifiées) des acides volatils potentiellement présents dans le vin ; il s'agit néanmoins très majoritairement de l'acide acétique. La teneur en acidité volatile est mesurée en "grammes d'acide sulfurique par litre de vin". L'acidité volatile est un critère de qualité utilisé par la loi française : un vin est dit "marchand" si celle-ci n'excède pas 0,9 g/L. Les réglementations viticoles de Champagne indiquent des limites comparables : 0,70 g/L H₂SO₄ (Véron, 2011). Nos valeurs en acidité volatile restent cependant faibles et acceptables pour des microvinifications.

1.2.2. Caractéristiques chromatiques des vins

Le Tableau 20 présente les caractéristiques chromatiques des vins issus des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015 (L*, a*, b* et A₄₂₀, A₅₂₀, A₆₂₀).

Tableau 20. Caractéristiques œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	Conductivité (µS/cm)
S1	90,704	-2,047	17,143	0,065	0,012	0,003	2,140	1755
S2	89,453	-2,669	22,047	0,091	0,016	0,005	1,933	1700
S3 CHY I	89,627	-2,612	21,384	0,083	0,013	0,004	1,973	1651
S4	84,848	-1,001	30,516	0,138	0,033	0,014	2,073	1655
S5	70,368	7,148	50,766	0,298	0,088	0,036	2,207	1682
S1	91,661	-1,845	15,035	0,053	0,009	0,003	2,013	1690
S2	90,784	-1,886	16,345	0,058	0,011	0,004	1,930	1661
S3 CHY II	91,781	-1,941	14,262	0,050	0,008	0,002	2,260	1592
S4	89,440	-1,892	21,305	0,081	0,015	0,003	1,827	1542
S5	86,371	-0,434	27,304	0,110	0,029	0,012	2,113	1481
S1	91,908	-2,141	14,535	0,047	0,007	0,001	2,183	1636
S2	90,555	-2,169	16,937	0,058	0,010	0,002	2,153	1634
S3 CHY III	88,033	-0,911	20,451	0,077	0,019	0,004	2,160	1654
S4	89,103	-1,844	19,103	0,073	0,014	0,003	2,073	1515
S5	86,495	-1,199	23,198	0,095	0,024	0,010	2,320	1454

La détermination des caractéristiques chromatiques par la méthode de référence (CIEL*a*b*) montre qu'au cours du pressurage, tandis que les paramètres a* et b* augmentent, la luminosité L* des 3 stades de maturité diminue dans les vins de S1 à S5. Ces indices évoluent fortement dans les vins de S4 à S5. Par exemple, la luminosité L* diminue de 17%, tandis que les paramètres a* et b* augmentent respectivement de 81% et de 66% du vin S4 CHY I au vin S5 CHY I.

Les caractéristiques chromatiques mesurées par la méthode usuelle montrent que l'A₄₂₀, l'A₅₂₀ et l'A₆₂₀ augmentent peu dans les vins de S1 à S3. Cependant, ces indices augmentent fortement du vin S3 jusqu'au vin S5. Par exemple, ils augmentent respectivement de 0,083 à 0,298 pour l'A₄₂₀, de 0,013 à 0,088 pour l'A₅₂₀ et de 0,004 à 0,036 pour l'A₆₂₀ dans les vins de S3 CHY I à S5 CHY I.

L'IFC est stable au cours du pressurage des raisins CHY III ; il varie de 2,073 à 2,320, tandis que celui des vins de CHY I est compris entre 1,933 et 2,207 méq. Pour les vins au stade de maturité II, l'IFC est le plus élevé dans le vin S3 CHY II (2,260 méq) et est le plus faible dans le vin S4 CHY II (1,827 méq).

La conductivité est stable dans les vins issus des moûts aussi bien au cours de la maturation qu'au cours du pressurage des raisins. Aucune tendance d'évolution particulière n'est observée. Sa valeur est respectivement de 1651 à 1755 µS/cm dans les vins de CHY I, de 1481 à 1690 µS/cm dans les vins de CHY II et de 1454 à 1654 µS/cm dans les vins de CHY III.

Toutefois, compte-tenu de la taille du pressoir et du fait que le décompactage est manuel entre chaque serre, ces deux derniers paramètres sont à considérer avec une certaine réserve.

Les différences de Chroma (C*) (Figure 42), de couleur (intensité colorante (IC)) (Figure 43) et de la différence de couleur entre deux vins (ΔE*) (Figure 44) peuvent être perçues par l'œil humain (Gomez-Miguez *et al.*, 2007). Le Chroma a été calculé à partir des paramètres a* et b*. L'intensité colorante du vin est donnée par la somme des absorbances à 420, 520 et 620 nm. Le C* se rapporte à la couleur et à la saturation : $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ (Gomez-Miguez *et al.*, 2007; Liang *et al.*, 2011). L'ΔE* est la différence entre le vin 1 et le vin 2 : $\Delta E^* = \sqrt{[(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2]}$ (Gomez-Miguez *et al.*, 2007).

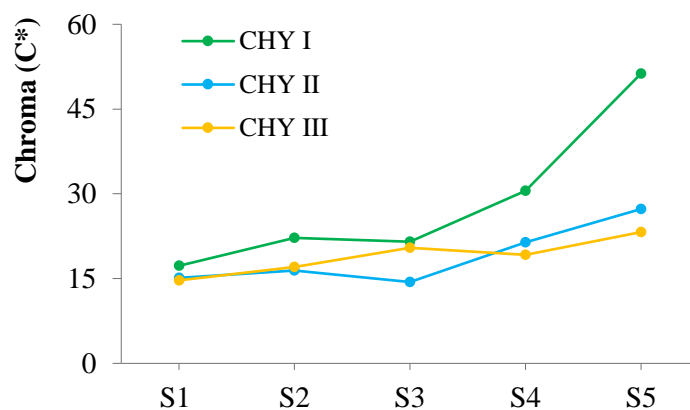


Figure 42. Evolution du chroma (C*) des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

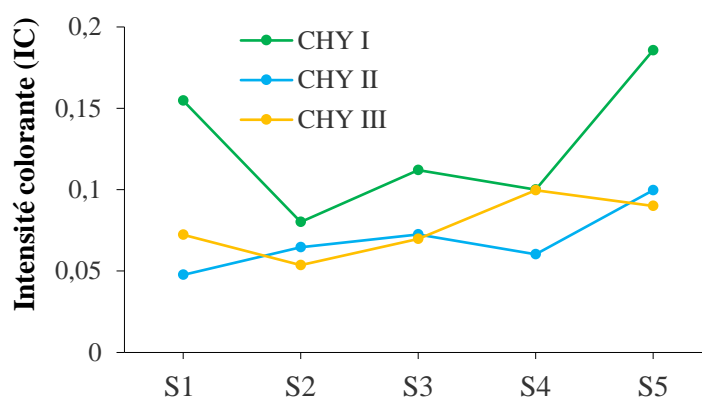


Figure 43. Evolution de l'intensité colorante (IC) des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

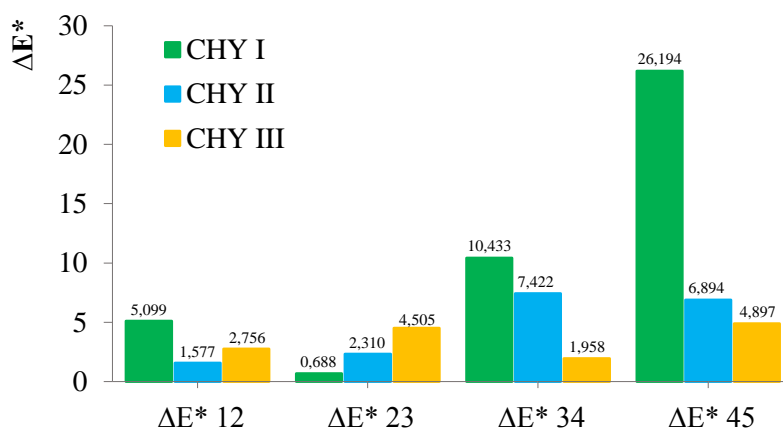


Figure 44. Evolution de la différence de couleur entre deux vins (ΔE^*) issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. ΔE^*12 : différence de couleur entre les vins S1 et S2 ; ΔE^*23 : différence de couleur entre les vins S2 et S3, ΔE^*34 : différence de couleur entre les vins S3 et S4 ; ΔE^*45 : différence de couleur entre les vins S4 et S5

Le Chroma (C^*) des vins des 3 stades de maturité augmente au cours du pressurage ; sa valeur pour CHY I est plus élevée par rapport à celui de CHY II et de CHY III ; il varie de 17,3 à 51,3 pour les vins de CHY I, tandis que celui des vins de CHY II est compris entre 15,1 et 27,3. Pour les vins au stade de maturité III, le C^* est le plus faible dans les vins CHY III, et varie de 14,7 à 23,2.

L'intensité colorante (IC) des vins des 3 stades de maturité augmente au cours du pressurage ; sa valeur est plus élevée pour les vins de CHY I par rapport aux vins de CHY II et de CHY III ; elle varie de 0,08 à 0,19 pour les vins de CHY I, tandis que celle des vins de CHY II et de CHY III est comprise respectivement entre 0,05 et 0,10 et entre 0,07 et 0,09.

Les différences de couleur (ΔE^*) des 3 stades de maturité des raisins montrent que la ΔE^* des vins issus des moûts de début du pressurage (S1, S2, S3) est plus faible que celle des vins de fin du pressurage (S4, S5). Leur valeur pour les vins de CHY I est plus élevée que celle des vins de CHY II et CHY III ; le ΔE^*_{45} , par exemple, est de 26,2 pour le vin de CHY I, de 6,9 pour le vin de CHY II et de 4,9 pour le vin de CHY II.

1.2.3. Teneurs en protéines

Pour les différents stades de maturité, les protéines des vins issus du fractionnement au pressurage, sont séparées par électrophorèse SDS-PAGE et colorées au nitrate d'argent (Figure 45). Les résultats des intégrations densitométriques des différentes bandes observées sont présentés sur la Figure 46. Les intensités protéiques totales (sommées des protéines, % par rapport à S1 CHY III) sont reportées dans la Figure 47.

Les vins de Chardonnay 2015 présentent 12 bandes protéiques majeures. Nous les appellerons : protéine A à protéine L.

D'une manière générale, les bandes protéiques des 3 stades de maturité se répartissent dans une large gamme de masses moléculaires, principalement de 15 à 250 kDa (Figure 45). Quelques bandes moins intenses sont situées entre 10 et 15 kDa. Nous pouvons noter la présence de bandes protéiques plus intenses : autour de 60 kDa, de 25 kDa et de 15 kDa.

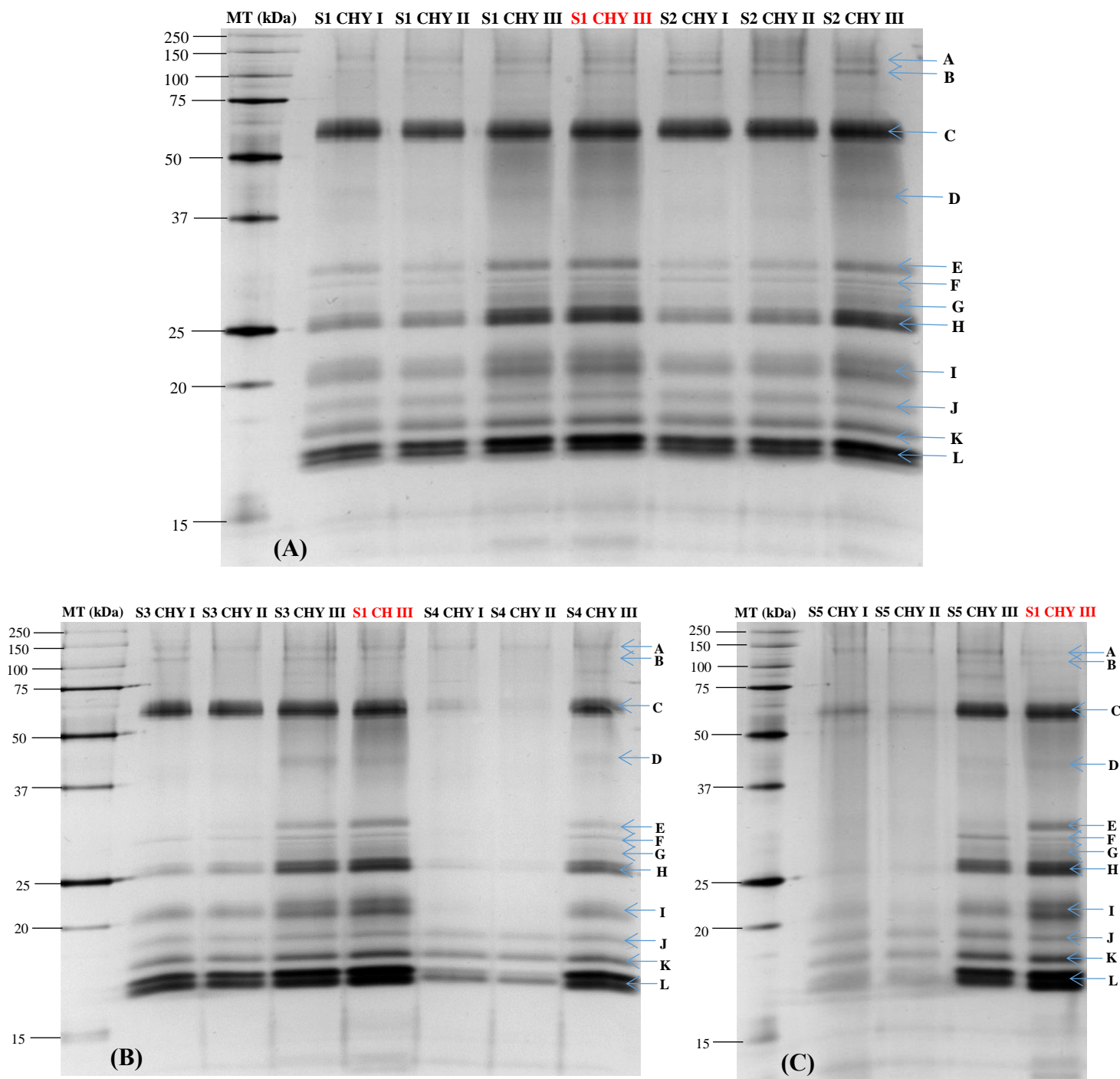


Figure 45. Profil protéique après séparation sur gel SDS-PAGE des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015

(A) Profils protéiques de S1 et S2 aux 3 stades de maturité ; (B) Profils protéiques de S3 et S4 aux 3 stades de maturité ; (C) Profils protéiques de S5 aux 3 stades de maturité. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. MT, marqueur de taille. SDS-PAGE avec révélation au nitrate d'argent. A, B, ..., L, nom des bandes protéiques

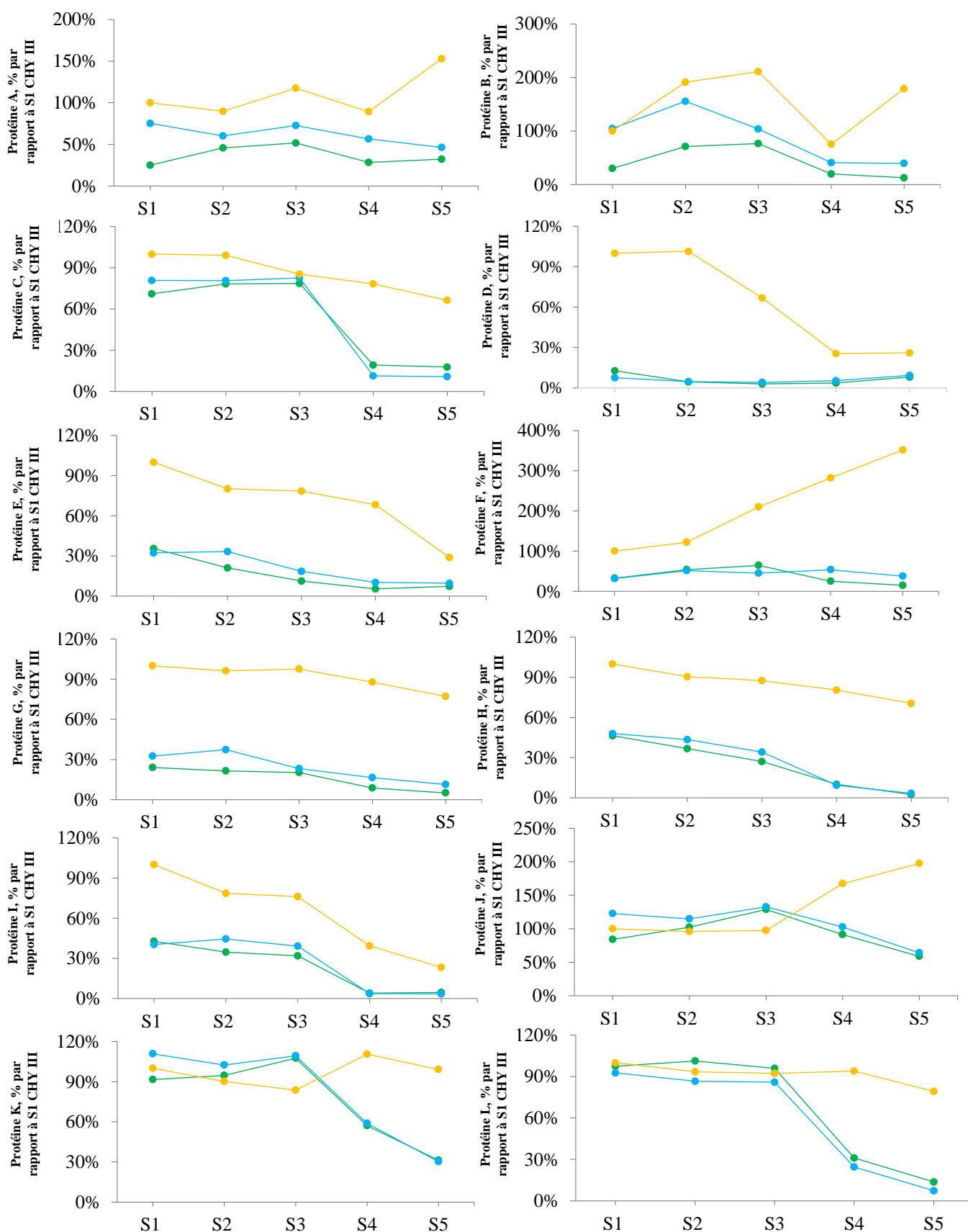


Figure 46. Evolution des protéines majeures (SDS-PAGE, % par rapport à S1 CHY III) des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. A, B, ..., L, nom des bandes protéiques

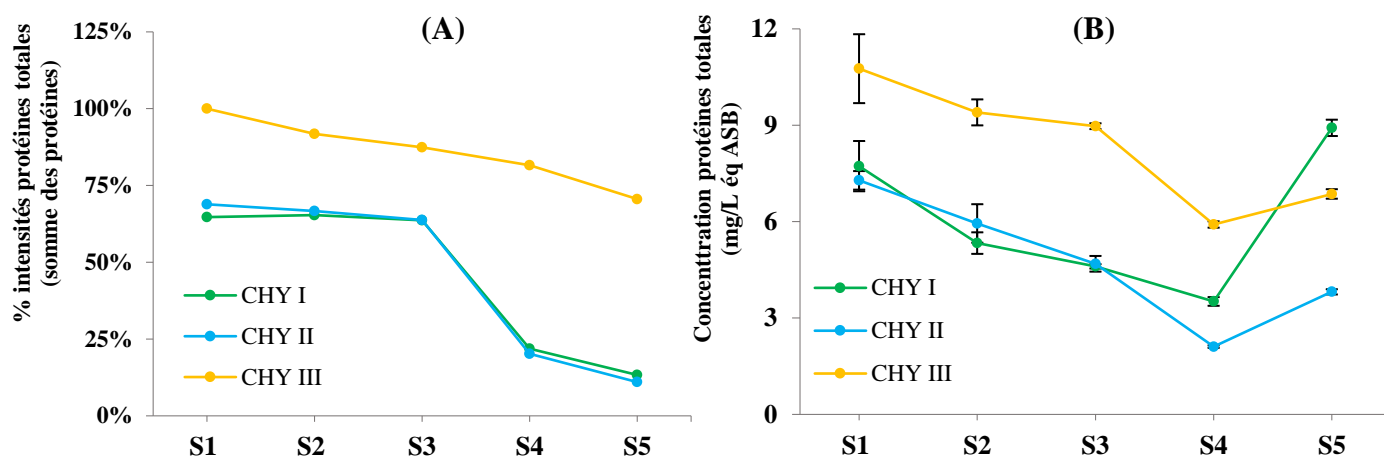


Figure 47. Evolution des protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des 3 stades de maturité des raisins Chardonnay 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. (A) SDS-PAGE, % par rapport à S1 CHY III ; (B) Dosage par la méthode de Bradford

Nos résultats (Figure 46) montrent que l'intensité des principales bandes protéiques (protéines A, B, C, D, E, F, G, H et I) est plus élevée dans les vins de CHY III que celle des autres stades de maturité. Par exemple, l'intensité de la protéine C dans les vins de CHY III varie de 100 à 66% (par rapport à S1 CHY III), tandis que celle observée dans les vins de CHY I et de CHY II est respectivement de 18 à 79%, de 11 à 83% dans les vins de S1 à S5.

L'intensité des bandes protéiques J, K, L des 3 stades de maturité est stable dans les vins de S1 à S3. Elle est plus élevée dans les vins de CHY III du vin S4 au vin S5. Par exemple, l'intensité de la protéine L dans le vin S1 CHY I est de 98% par rapport à S1 CHY III ; dans le vin S1 CHY II, elle est de 93% par rapport à S1 CHY III. L'intensité de la protéine L est de 94 à 79% par rapport à S1 CHY III dans les vins S4 CHY III et S5 CHY III, tandis que celle des vins de CHY I et de CHY II est respectivement 31 à 14% par rapport à S1 CHY III, et 25 et 7% par rapport à S1 CHY III dans les vins S4 et S5.

Quelle que soit le vin étudié de S1 à S5, les intensités en protéines totales (somme des bandes de chaque protéine) des vins de CHY III (Figure 47A) sont plus élevées que celles des vins de CHY I et de CHY II. Par exemple, dans le vin S1, les protéines totales du vin de CHY I représentent 52% des protéines totales de S1 CHY III ; l'intensité en protéines totales du vin de CHY II est de 65% par rapport à S1 CHY III.

L'intensité de la plupart des protéines (protéines C, D, E, G, H, I, L) dans les vins des 3 stades de maturité diminue au cours du pressurage ; celle des protéines A, F et J dans les vins de CHY III augmentent de S4 à S5. Dans le vin S5 : protéine A : +53% par rapport à S1 CHY III, protéine F : +252% par rapport à S1 CHY III, protéine J : +97% par rapport à S1 CHY III.

L'intensité des protéines totales (sommées des protéines) (Figure 47A) des vins des 3 stades de maturité diminue dans les vins de S1 à S5 et sont plus élevées dans les vins de CHY III que celles des autres stades de maturité. Sa valeur dans les vins de CHY I, de CHY II et de CHY III diminue respectivement de 65 à 13%, de 69 à 11% et de 100 à 71% dans les vins, de S1 à S5.

Les résultats obtenus par la méthode de Bradford (Figure 47B) montrent que la concentration en protéines solubles totales des vins des 3 stades de maturité diminue dans les vins, de S1 à S4, et est plus élevée dans les vins de CHY III que celle des autres stades de maturité. Cependant, la concentration en protéines solubles totales du vin S5 CHY II ($3,8 \pm 0,081$ mg/L équivalent ASB) est plus faible que celle du vin S5 CHY III ($6,9 \pm 0,148$ mg/L équivalent ASB) et du vin S5 CHY I ($8,9 \pm 0,254$ mg/L équivalent ASB). La teneur en protéines totales diminue au cours du pressurage quel que soit le stade de maturité, quel que soit la méthode utilisée (SDS-PAGE et méthode de Bradford). Cependant, la méthode SDS-PAGE montre que la teneur en protéines totales diminue du vin S4 au vin S5, alors que la méthode de Bradford montre le contraire.

1.2.4. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des vins

1.2.4.1. Le stade de maturité I

Une forte corrélation est observée entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,947$) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I (Tableau 21).

Ces deux caractéristiques montrent de fortes corrélations avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,887$, $R^2 = 0,938$, respectivement), la concentration en calcium ($R^2 = 0,903$, $R^2 = 0,891$, respectivement), la concentration en sucres ($R^2 = 0,980$, $R^2 = 0,963$, respectivement) et également avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,871$, $R^2 = 0,938$, respectivement).

La concentration en sucres fermentescibles est fortement corrélée avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,921$) et avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,875$). Nos résultats (Tableau 21) montrent également que la concentration en acide malique est fortement corrélée avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,935$) et en calcium ($R^2 = 0,877$).

De fortes corrélations sont observées entre l'acidité volatile, la concentration en potassium, les paramètres L^* , a^* et b^* , et les absorbances à A_{420} , A_{520} et A_{620} .

Tableau 21. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,947 ^a	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,287	0,511	1																	
Acide malique (g/L)	0,887 ^b	0,938 ^a	0,456	1																
Acide tartrique (g/L)	0,651	0,832	0,807	0,718	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,594	0,641	0,297	0,828	0,495	1														
Potassium (mg/L)	0,287	0,280	0,063	0,521	0,112	0,788	1													
Calcium (mg/L)	0,903 ^a	0,891 ^b	0,311	0,877 ^b	0,711	0,762	0,362	1												
TAV (% vol)	0,272	0,257	0,122	0,081	0,257	0,010	0,182	0,129	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,980 ^a	0,963 ^a	0,367	0,875 ^b	0,698	0,521	0,228	0,835	0,345	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,871 ^b	0,938 ^a	0,519	0,935 ^a	0,715	0,614	0,356	0,735	0,191	0,921 ^a	1									
Conductivité (µS/cm)	0,310	0,678	0,486	0,446	0,682	0,107	0,001	0,435	0,778	0,717	0,614	1								
L*	0,492	0,537	0,258	0,772	0,346	0,917 ^a	0,913 ^a	0,561	0,039	0,448	0,621	0,063	1							
a*	0,387	0,400	0,142	0,649	0,204	0,846	0,977 ^a	0,445	0,097	0,336	0,496	0,014	0,974 ^a	1						
b*	0,557	0,628	0,355	0,841	0,458	0,939 ^a	0,839	0,632	0,013	0,523	0,699	0,118	0,987 ^a	0,925 ^a	1					
A420 (nm)	0,494	0,554	0,299	0,784	0,376	0,915 ^a	0,889 ^b	0,562	0,033	0,458	0,642	0,075	0,998 ^a	0,961 ^a	0,993 ^a	1				
A520 (nm)	0,465	0,512	0,251	0,750	0,333	0,919 ^a	0,922 ^a	0,546	0,051	0,420	0,591	0,050	0,999 ^a	0,977 ^a	0,983 ^a	0,996 ^a	1			
A620 (nm)	0,505	0,550	0,262	0,781	0,373	0,954 ^a	0,903 ^a	0,607	0,039	0,451	0,605	0,063	0,994 ^a	0,959 ^a	0,986 ^a	0,990 ^a	0,995 ^a	1		
IFC (még)	0,129	0,070	0,036	0,197	0,002	0,503	0,699	0,245	0,275	0,058	0,057	0,089	0,476	0,577	0,393	0,433	0,493	0,507	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.2.4.2. Le stade de maturité II

Les résultats présentés dans le Tableau 22 montrent une forte corrélation entre la concentration en acide tartrique et en calcium ($R^2 = 0,917$) dans les vins issus des moûts isolés au cours du pressurage des raisins CHY II. Ces deux composés montrent de fortes corrélations avec la luminosité L^* ($R^2 = 0,860$, $R^2 = 0,933$, respectivement), avec l' A_{520} ($R^2 = 0,918$, $R^2 = 0,939$, respectivement), avec le paramètre b^* ($R^2 = 0,841$, $R^2 = 0,963$, respectivement) et également avec l' A_{420} ($R^2 = 0,860$, $R^2 = 0,970$, respectivement). De plus, la concentration en acide tartrique est aussi fortement corrélée avec le paramètre a^* et avec l' A_{620} ($R^2 = 0,896$, $R^2 = 0,861$, respectivement).

La concentration en acide malique est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,923$), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,985$), et avec la conductivité ($R^2 = 0,987$). De plus, la conductivité est aussi fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,950$) et avec l'acidité totale ($R^2 = 0,998$).

De fortes corrélations sont observées entre les paramètres L^* , a^* , b^* , et les absorbances A_{420} , A_{520} , A_{620} .

Tableau 22. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,967 ^a	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,594	0,632	1																	
Acide malique (g/L)	0,923 ^a	0,985 ^a	0,573	1																
Acide tartrique (g/L)	0,614	0,748	0,748	0,788	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,206	0,177	0,802	0,266	0,667	1														
Potassium (mg/L)	0,586	0,725	0,242	0,800	0,605	0,099	1													
Calcium (mg/L)	0,617	0,761	0,492	0,845	0,917 ^a	0,393	0,794	1												
TAV (% vol)	0,233	0,260	0,004	0,258	0,035	0,057	0,502	0,104	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,577	0,639	0,335	0,597	0,342	0,083	0,650	0,353	0,718	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,637	0,746	0,215	0,835	0,604	0,075	0,950 ^a	0,833	0,377	0,487	1									
Conductivité (µS/cm)	0,950 ^a	0,998 ^a	0,631	0,987 ^a	0,762	0,285	0,755	0,779	0,280	0,666	0,763	1								
L*	0,632	0,723	0,481	0,799	0,860 ^b	0,376	0,612	0,933 ^a	0,023	0,192	0,735	0,721	1							
a*	0,411	0,508	0,683	0,549	0,896 ^b	0,761	0,324	0,767	0,018	0,089	0,373	0,510	0,826	1						
b*	0,634	0,741	0,418	0,829	0,841	0,306	0,718	0,963 ^a	0,065	0,246	0,831	0,745	0,985 ^a	0,751	1					
A420 (nm)	0,640	0,749	0,443	0,835	0,860 ^b	0,331	0,716	0,970 ^a	0,062	0,254	0,822	0,754	0,987 ^a	0,770	0,999 ^a	1				
A520 (nm)	0,600	0,704	0,560	0,774	0,918 ^a	0,488	0,578	0,939 ^a	0,012	0,191	0,672	0,706	0,987 ^a	0,899 ^b	0,960 ^a	0,968 ^a	1			
A620 (nm)	0,445	0,527	0,604	0,578	0,861 ^b	0,641	0,338	0,786	0,018	0,069	0,424	0,523	0,890 ^b	0,980 ^a	0,814	0,827	0,937 ^a	1		
IFC (még)	0,021	0,018	0,427	0,002	0,055	0,446	0,046	0,002	0,053	0,044	0,103	0,018	0,006	0,065	0,022	0,015	0,0003	0,022	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.2.4.3. Le stade de maturité III

Les résultats présentés dans le Tableau 23 montrent que l'acidité totale est fortement corrélée avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,985$), avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,983$), et avec la conductivité ($R^2 = 0,874$). Alors que le pH est fortement corrélé avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,903$), avec la luminosité L^* ($R^2 = 0,908$) et avec l' A_{420} ($R^2 = 0,907$), la concentration en acide malique est quant à elle fortement corrélée avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,985$) et avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,926$).

Nous observons de fortes corrélations entre les valeurs de b^* , A_{420} , A_{520} et A_{620} . Les résultats du Tableau 23 montrent une forte corrélation entre la luminosité L^* et l'acidité volatile ($R^2 = 0,948$) des vins issus des moûts au cours du pressurage des raisins CHY III. Ces deux caractéristiques montrent de fortes corrélations avec le paramètre b^* ($R^2 = 0,927$, $R^2 = 0,997$, respectivement), l' A_{520} ($R^2 = 0,949$, $R^2 = 0,987$, respectivement), et l' A_{420} ($R^2 = 0,889$, $R^2 = 0,988$, respectivement).

Tableau 23. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY III 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,766	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,133	0,011	1																	
Acide malique (g/L)	0,813	0,985 ^a	0,005	1																
Acide tartrique (g/L)	0,903 ^a	0,857 ^b	0,012	0,926 ^a	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,833	0,487	0,176	0,592	0,833	1														
Potassium (mg/L)	0,305	0,718	0,327	0,721	0,558	0,209	1													
Calcium (mg/L)	0,001	0,199	0,768	0,188	0,094	1E-5	0,659	1												
TAV (% vol)	0,158	0,005	0,653	0,001	0,081	0,422	0,107	0,373	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,539	0,891 ^b	0,060	0,851 ^b	0,697	0,320	0,718	0,372	0,056	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,809	0,983 ^a	0,004	0,985 ^a	0,881 ^b	0,541	0,700	0,151	3E-7	0,799	1									
Conductivité (µS/cm)	0,421	0,874 ^b	0,199	0,829	0,607	0,209	0,906 ^a	0,505	0,142	0,897 ^b	0,821	1								
L*	0,908 ^a	0,705	0,068	0,797	0,963 ^a	0,948	0,390	0,031	0,211	0,540	0,742	0,418	1							
a*	0,597	0,228	0,232	0,327	0,573	0,878 ^b	0,086	0,026	0,641	0,077	0,306	0,049	0,724	1						
b*	0,910 ^a	0,736	0,058	0,821	0,972 ^a	0,927 ^a	0,410	0,041	0,180	0,587	0,762	0,451	0,997 ^a	0,678	1					
A420 (nm)	0,907 ^a	0,793	0,032	0,872 ^b	0,991 ^a	0,889 ^b	0,481	0,066	0,130	0,644	0,817	0,524	0,988 ^a	0,631	0,994 ^a	1				
A520 (nm)	0,842	0,655	0,045	0,760	0,943 ^a	0,949 ^a	0,416	0,047	0,226	0,493	0,700	0,398	0,987 ^a	0,767	0,978 ^a	0,970 ^a	1			
A620 (nm)	0,641	0,732	0,011	0,814	0,892 ^b	0,707	0,676	0,290	0,036	0,712	0,721	0,628	0,846	0,456	0,863 ^b	0,889 ^b	0,873 ^b	1		
IFC (még)	0,047	0,112	0,164	0,165	0,238	0,212	0,370	0,501	0,011	0,195	0,098	0,179	0,241	0,159	0,245	0,253	0,318	0,546	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.2.5. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des moûts et des vins

1.2.5.1. Le stade de maturité I

Les corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I sont présentées dans le Tableau 24. Nous observons que le pH des moûts est fortement corrélé avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,990$), avec le paramètre b^* ($R^2 = 0,902$), avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,917$), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,887$), avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,863$), et avec l' A_{420} ($R^2 = 0,855$) des vins.

De fortes corrélations sont observées entre l'acidité totale des moûts et l'acidité totale de quoi ? ($R^2 = 0,963$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,980$), le pH, la concentration en acide malique, et la concentration en sucres ($R^2 = 0,903$, $R^2 = 0,986$, $R^2 = 0,919$, respectivement) des vins de CHY I.

De fortes corrélations ont été trouvées entre la concentration en acide malique des moûts et l'acidité totale, la concentration en azote alpha-aminé, la concentration en acide malique, la concentration en sucres des vins ($R^2 = 0,968$, $R^2 = 0,980$, $R^2 = 0,982$ et $R^2 = 0,917$, respectivement). La concentration en acide tartrique des moûts est fortement corrélée avec l'acidité totale ($R^2 = 0,933$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,975$) et la concentration en calcium ($R^2 = 0,930$) des vins de CHY I.

La concentration en sucres des moûts est fortement corrélée avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,937$) et également avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,891$), la luminosité L^* ($R^2 = 0,856$), le paramètre b^* ($R^2 = 0,879$), l' A_{620} ($R^2 = 0,866$) des vins de CHY I.

Les concentrations en azote alpha-aminé et en azote assimilable des moûts sont fortement corrélées avec le pH ($R^2 = 0,960$ et $R^2 = 0,964$, respectivement), l'acidité totale ($R^2 = 0,978$ et $R^2 = 0,960$, respectivement), avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,917$ et $R^2 = 0,878$, respectivement), la concentration en sucres ($R^2 = 0,990$ et $R^2 = 0,997$, respectivement), et la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,965$ et $R^2 = 0,943$, respectivement) des vins de CHY I.

La concentration en potassium des moûts est fortement corrélée avec la concentration en potassium et avec le paramètre a^* des vins ($R^2 = 0,919$ et $R^2 = 0,865$, respectivement).

Nos résultats montrent aussi que le rapport S/A.T. des moûts est fortement corrélé avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,986$), le pH ($R^2 = 0,881$), l'acidité totale ($R^2 = 0,956$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,979$), ainsi qu'avec la concentration en sucres ($R^2 = 0,907$) des vins de CHY I.

Tableau 24. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY I 2015

Moûts	Vins																		
	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)
pH	0,824	0,887 ^b	0,457	0,990 ^a	0,672	0,863 ^b	0,600	0,822	0,041	0,812	0,917 ^a	0,371	0,842	0,727	0,902 ^a	0,855 ^b	0,823	0,845	0,226
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,903 ^a	0,963 ^a	0,500	0,986 ^a	0,746	0,732	0,431	0,836	0,140	0,919 ^a	0,980 ^a	0,546	0,696	0,567	0,774	0,713	0,670	0,695	0,118
Acide gluconique (mg/L)	0,197	0,184	0,067	0,052	0,289	0,004	0,138	0,244	0,554	0,189	0,047	0,404	0,038	0,097	0,012	0,035	0,042	0,020	0,042
Acide malique (g/L)	0,897 ^b	0,968 ^a	0,528	0,982 ^a	0,769	0,724	0,412	0,833	0,148	0,917 ^a	0,980 ^a	0,563	0,683	0,549	0,765	0,702	0,657	0,683	0,105
Acide tartrique (g/L)	0,861 ^b	0,933 ^a	0,496	0,975 ^a	0,794	0,855 ^b	0,475	0,930	0,079	0,834	0,866 ^b	0,438	0,729	0,592	0,811	0,742	0,712	0,758	0,202
Sucres (g/L)	0,829	0,800	0,238	0,937 ^a	0,495	0,891 ^b	0,699	0,845	0,016	0,765	0,805	0,248	0,856 ^b	0,786	0,879 ^b	0,848	0,839	0,866 ^b	0,412
Azote assimilable (mg/L)	0,964 ^a	0,960 ^a	0,391	0,878 ^b	0,695	0,512	0,232	0,800	0,341	0,997 ^a	0,943 ^a	0,725	0,459	0,346	0,534	0,471	0,429	0,456	0,047
Azote ammoniacal (mg/L)	0,770	0,645	0,105	0,486	0,350	0,146	0,031	0,501	0,617	0,808	0,615	0,725	0,119	0,074	0,152	0,119	0,099	0,112	0,001
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,960 ^a	0,978 ^a	0,438	0,917 ^a	0,733	0,570	0,272	0,823	0,291	0,990 ^a	0,965 ^a	0,697	0,516	0,394	0,595	0,530	0,486	0,514	0,058
Calcium (mg/L)	0,017	0,022	0,004	0,143	0,004	0,497	0,779	0,090	0,599	0,003	0,037	0,181	0,571	0,671	0,486	0,548	0,602	0,584	0,715
Potassium (mg/L)	0,095	0,096	0,019	0,287	0,014	0,538	0,919 ^a	0,126	0,360	0,068	0,185	0,049	0,751	0,865 ^b	0,651	0,729	0,765	0,717	0,595
Sucres/Acidité totale	0,881 ^b	0,956 ^a	0,533	0,979 ^a	0,755	0,718	0,422	0,808	0,139	0,907 ^a	0,986 ^a	0,553	0,693	0,562	0,773	0,713	0,667	0,689	0,101

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.2.5.2. Le stade de maturité II

Les corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015 sont présentées dans le Tableau 25.

Le pH des moûts présente de fortes corrélations avec le pH ($R^2 = 0,928$ et $R^2 = 0,979$, respectivement), l'acidité totale ($R^2 = 0,986$ et $R^2 = 0,984$, respectivement), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,984$ et $R^2 = 0,974$, respectivement) et la conductivité ($R^2 = 0,987$ et $R^2 = 0,872$, respectivement) des vins de CHY II.

La concentration en sucres des moûts est fortement corrélée avec la concentration en potassium ($R^2 = 0,959$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,878$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,881$) et avec la conductivité ($R^2 = 0,860$) des vins de CHY II.

La concentration en azote ammoniacal est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,971$), avec l'acidité totale et avec la conductivité des vins ($R^2 = 0,992$ et $R^2 = 0,907$, respectivement) de CHY II.

De plus, le rapport S/A.T. des moûts est fortement corrélé avec le pH ($R^2 = 0,936$), l'acidité totale ($R^2 = 0,980$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,991$), la conductivité ($R^2 = 0,976$), ainsi qu'avec l' A_{420} ($R^2 = 0,852$) des vins de CHY II.

Tableau 25. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY II 2015

	Vins																			
	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
Moûts																				
pH	0,928 ^a	0,986 ^a	0,695	0,984 ^a	0,841	0,371	0,717	0,832	0,189	0,575	0,740	0,987 ^a	0,796	0,622	0,803	0,815	0,793	0,635	0,026	
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,979 ^a	0,984 ^a	0,565	0,974 ^a	0,697	0,220	0,684	0,740	0,225	0,544	0,753	0,972 ^a	0,750	0,491	0,762	0,766	0,712	0,535	0,003	
Acide gluconique (mg/L)	0,416	0,347	0,001	0,342	0,237	0,142	0,373	0,112	0,614	0,365	0,436	0,337	0,105	0,004	0,153	0,142	0,054	2E-4	0,210	
Acide malique (g/L)	0,938 ^a	0,993 ^a	0,584	0,994 ^a	0,755	0,255	0,795	0,797	0,304	0,667	0,807	0,997 ^a	0,733	0,496	0,766	0,773	0,711	0,515	0,007	
Acide tartrique (g/L)	0,997 ^a	0,971 ^a	0,616	0,921 ^a	0,618	0,219	0,594	0,609	0,256	0,624	0,626	0,957 ^a	0,605	0,401	0,610	0,617	0,580	0,425	0,033	
Sucres (g/L)	0,685	0,829	0,427	0,878 ^b	0,741	0,225	0,959 ^a	0,842	0,427	0,729	0,881 ^b	0,860 ^b	0,655	0,436	0,736	0,744	0,649	0,428	2E-4	
Azote assimilable (mg/L)	0,892 ^b	0,778	0,302	0,731	0,311	0,026	0,433	0,375	0,270	0,437	0,532	0,748	0,436	0,172	0,446	0,441	0,368	0,226	0,002	
Azote ammoniacal (mg/L)	0,971 ^a	0,992 ^a	0,457	0,874 ^b	0,478	0,099	0,604	0,520	0,365	0,655	0,641	0,907 ^a	0,510	0,261	0,534	0,536	0,464	0,293	0,006	
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,454	0,295	0,050	0,258	0,030	0,020	0,059	0,059	0,044	0,051	0,153	0,258	0,156	0,019	0,141	0,133	0,101	0,058	0,037	
Calcium (mg/L)	0,011	0,006	0,016	0,028	0,212	0,169	0,198	0,246	0,004	0,017	0,129	0,014	0,121	0,193	0,153	0,157	0,158	0,147	0,013	
Potassium (mg/L)	0,044	0,003	0,019	0,004	0,094	0,028	0,112	0,182	0,013	0,032	0,118	0,001	0,136	0,136	0,165	0,160	0,144	0,139	0,227	
Sucres/Acidité totale	0,936	0,980	0,607	0,991	0,801	0,296	0,730	0,840	0,187	0,519	0,791	0,976	0,835	0,600	0,846	0,852	0,810	0,637	0,004	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.2.5.3. Le stade de maturité III

Les corrélations entre les paramètres des moûts et des vins de CHY III sont présentées dans le Tableau 26. L'A.T. et le pH des moûts sont fortement corrélés avec le pH ($R^2 = 0,882$ et $R^2 = 0,903$, respectivement), l'acidité totale ($R^2 = 0,963$ et $R^2 = 0,950$, respectivement), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,989$ et $R^2 = 0,961$, respectivement), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,961$ et $R^2 = 0,931$, respectivement), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,967$ et $R^2 = 0,939$, respectivement), avec l'A₄₂₀ ($R^2 = 0,923$ et $R^2 = 0,900$, respectivement) et avec le paramètre b* ($R^2 = 0,884$ et $R^2 = 0,869$, respectivement) dans les vins. De plus, l'acidité totale des moûts est également fortement corrélée avec la luminosité L* ($R^2 = 0,863$) des vins de CHY III.

La concentration en acide malique et en acide tartrique des moûts sont fortement corrélées avec le pH, la concentration en acide tartrique, la luminosité L*, le paramètre b*, l'A₄₂₀, et l'A₅₂₀ des vins de CHY III. La concentration en acide malique des moûts est également fortement corrélée avec l'acidité totale ($R^2 = 0,914$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,959$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,954$) des vins. De plus, une forte corrélation est observée entre la concentration en acide tartrique des moûts et l'acidité volatile ($R^2 = 0,933$) des vins de CHY III.

La concentration en azote ammoniacal des moûts est fortement corrélée avec la luminosité L*, le paramètre b*, l'A₄₂₀, l'A₅₂₀, l'A₆₂₀ ($R^2 = 0,976$, $R^2 = 0,977$, $R^2 = 0,983$, $R^2 = 0,986$ et $R^2 = 0,936$, respectivement), ainsi qu'avec la concentration en acide tartrique et avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,969$ et $R^2 = 0,891$, respectivement) des vins de CHY III. La corrélation entre la concentration en calcium des moûts et la concentration en potassium des vins est forte ($R^2 = 0,954$).

De plus, le rapport S/A.T. des moûts est fortement corrélé avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,976$), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,983$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,937$), le paramètre b* ($R^2 = 0,918$), l'A₄₂₀ ($R^2 = 0,954$) et également avec le pH ($R^2 = 0,860$), la luminosité L* ($R^2 = 0,899$), l'A₅₂₀ et l'A₆₂₀ des vins ($R^2 = 0,873$ et $R^2 = 0,892$, respectivement).

Tableau 26. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins CHY III 2015

	Vins																		
	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)
pH	0,903 ^a	0,950 ^a	0,010	0,961 ^a	0,931 ^a	0,660	0,541	0,087	0,015	0,825	0,939 ^a	0,705	0,842	0,357	0,869 ^b	0,900 ^a	0,776	0,762	0,104
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,882 ^b	0,963 ^a	0,001	0,989 ^a	0,961 ^a	0,678	0,632	0,127	0,014	0,815	0,967 ^a	0,748	0,863 ^b	0,397	0,884 ^b	0,923 ^a	0,819	0,823	0,154
Acide gluconique (mg/L)	0,722	0,856 ^b	0,010	0,786	0,632	0,330	0,385	0,037	0,010	0,751	0,821	0,658	0,507	0,106	0,541	0,580	0,414	0,407	8E-5
Acide malique (g/L)	0,922 ^a	0,914 ^a	0,009	0,959 ^a	0,969 ^a	0,745	0,578	0,076	0,045	0,697	0,954 ^a	0,661	0,897 ^b	0,507	0,905 ^a	0,936 ^a	0,862 ^b	0,790	0,131
Acide tartrique (g/L)	0,948 ^a	0,696	0,098	0,783	0,935 ^a	0,933 ^a	0,349	0,006	0,234	0,461	0,764	0,383	0,970 ^a	0,768	0,957 ^a	0,949 ^a	0,950 ^a	0,737	0,137
Sucres (g/L)	0,483	0,082	0,611	0,136	0,352	0,745	0,003	0,198	0,856 ^b	0,019	0,113	0,002	0,539	0,800	0,507	0,434	0,530	0,230	0,040
Azote assimilable (mg/L)	0,434	0,641	0,075	0,650	0,512	0,251	0,669	0,152	0,013	0,380	0,731	0,625	0,379	0,212	0,373	0,430	0,389	0,386	0,040
Azote ammoniacal (mg/L)	0,825	0,731	0,014	0,827	0,969 ^a	0,891 ^b	0,515	0,101	0,141	0,600	0,759	0,503	0,976 ^a	0,665	0,977 ^a	0,983 ^a	0,986 ^a	0,936 ^a	0,363
Azote alpha-aminé (mg/L)	4E-6	0,074	0,275	0,049	4E-4	0,062	0,191	0,076	0,315	0,016	0,101	0,172	0,015	0,041	0,016	0,005	0,014	0,005	0,074
Calcium (mg/L)	0,206	0,605	0,406	0,610	0,471	0,159	0,954 ^a	0,806	0,136	0,712	0,556	0,842	0,323	0,044	0,348	0,410	0,353	0,675	0,513
Potassium (mg/L)	0,146	1E-4	0,404	0,005	0,058	0,266	0,041	0,387	0,662	0,098	0,012	0,077	0,128	0,571	0,097	0,074	0,145	0,003	0,022
Sucres/Acidité totale	0,860 ^b	0,930 ^a	1E-4	0,976 ^a	0,983 ^a	0,725	0,657	0,155	0,025	0,798	0,937 ^a	0,729	0,899 ^b	0,448	0,918 ^a	0,954 ^a	0,873 ^b	0,892 ^b	0,232

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.2.6. Discussion sur les vins

Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins

Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de base issus des 3 stades de maturité suivent des évolutions comparables à celles observées dans les moûts au cours du pressurage de raisins Chardonnay 2015. Néanmoins, il est important de noter que la concentration en potassium dans les vins de base est plus faible que celle des moûts correspondants. Le moût riche en acide tartrique et les sels formés avec le potassium sont en état de sursaturation dans le vin (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Davaux *et al.*, 2013). Cela pourrait être expliqué par la formation des sels de bi-tartrate de potassium après la fermentation et le "passage au froid". Mais cette stabilité va dépendre de certains facteurs tels que la concentration en acide tartrique, la concentration en éthanol, en ions potassium et calcium, le pH, la température et la présence de colloïdes (Moine *et al.*, 2013).

Néanmoins, on voit que 1) les caractéristiques déterminées pour les moûts permettent globalement de « prédire » ce que seront les caractéristiques déterminées pour les vins, et 2) la durée de fermentation alcoolique (FA) des vins ont liées aux stades de maturité des raisins. Ces résultats ne peuvent que conforter l'intérêt des champenois de pratiquer un fractionnement précis, surtout dans l'objectif de produire des cuvées « haut de gamme », basé sur les caractéristiques œnologique et chromatiques des moûts et des vins.

Caractéristiques œnologiques des vins

Les indices de couleur augmentent plus rapidement à partir des vins S3 du pressurage, particulièrement pour les vins de CHY I où la valeur la plus élevée de ΔE^* a été trouvée ($\Delta E^*_{34} = 10,433$ et $\Delta E^*_{45} = 26,194$) ; celle-ci est supérieure à trois unités entre des vins et elle peut donc être facilement détectée par l'observateur (Carbone et Fiordiponti, 2016). Au contraire, une valeur inférieure à trois unités (par exemple, ΔE^*_{23} de CHY I et CHY II) rend difficile la différenciation de la couleur par l'observateur (Carbone et Fiordiponti, 2016). Le Chroma et l'IC des vins de CHY I sont plus élevés que ceux des vins de CHY II et de CHY III. Ils augmentent dans les vins de S1 à S5. Cela pourrait être expliqué par le fait que la pellicule des baies contienne des tanins qui s'accumulent de la véraison à la maturité (Pirie et Mullins, 1976; Somers, 1976; Guilloux, 1981). Les anthocyanes sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules hypodermiques les plus superficielles (Pratt, 1971; Park et Darné, 1996). Au dernier stade du pressurage, lorsque la pression augmente pour atteindre 1,6 bars, plus de composés phénoliques sont extraits de la pellicule des baies

de raisin, lesquels peuvent aussi être oxydés (Fernández-Zurbano *et al.*, 1998; Olejar *et al.*, 2015) produisant des o-quinones et des pigments jaunes. Cela donne une tonalité de couleur ambre doré dans les vins (Carbone et Fiordiponti, 2016). Cette tendance à l'oxydation dans les vins a également été confirmée par les valeurs de L* qui diminuent dans les vins de S1 à S5 (Darias Martin *et al.*, 2000; Olejar *et al.*, 2015).

Les prélèvements des raisins Chardonnay ont été réalisés en fin de maturation des baies, alors même que l'accumulation des tanins était déjà importante (Blouin, 1998). Cela pourrait expliquer la stabilité relative de l'indice de Folin-Ciocalteu dans nos essais sur la période d'étude des raisins Chardonnay 2015.

La conductivité mesure la teneur ionique dans une solution. Elle est stable dans les vins issus des 3 stades de maturité. Elle diminue un peu dans les vins de S1 à S5. Ces résultats sont comparables avec ceux d'une étude antérieure (Idzikowski, 2013).

De fortes corrélations sont observées entre la luminosité L* et les paramètres a* et b* des vins des 3 stades de maturité. De plus, pour les vins de CHY III, ces paramètres sont fortement corrélés avec la plupart des paramètres œnologiques des moûts. Cela suggère que ces paramètres de la couleur peuvent utiliser comme des marqueurs de la maturité des raisins Chardonnay 2015 et également de la qualité (indirectement) des vins de base de Champagne basé sur les caractéristiques œnologique et chromatiques des moûts et des vins.

Teneurs en protéines

Il est possible de visualiser des changements significatifs dans les profils protéiques des vins, du stade de maturité I au stade de maturité III pour le Chardonnay 2015. Le pourcentage de chaque protéine est calculé par rapport S1 CHY III. Au cours de la maturité des raisins, pour les protéines A, B, C, E, F, G, H, I, détectables au stade de maturité I, leur teneur augmente dans les vins de CHY II et de CHY III. Pour les protéines J, K et L, en revanche, leur teneur (%) est stable dans les vins issus des moûts de début du pressurage des raisins CHY I à CHY III. Concernant le cycle de pressurage, tandis que la teneur de la plupart des protéines des 3 stades de maturité diminue dans les vins de S1 à S5, la teneur des protéines A, F, J et des vins de CHY III augmente, et celle-ci est la plus élevée dans les vins issus des moûts de fin du pressurage des raisins Chardonnay 2015. Toutes ces protéines pourraient être impliquées dans la défense et la réponse au stress, le métabolisme des glucides, la synthèse des protéines, la destruction des pathogènes (Fraige *et al.*, 2015).

Les protéines de masses moléculaires comprises entre 15 et 30 kDa (protéines E, F, G, H, I, J, K, L) correspondraient en partie à des protéines de pathogénèse comme celles observées dans des études antérieures (Famiani *et al.*, 2000; Negri *et al.*, 2008). Les chitinases et les thaumatines sont les protéines les plus abondantes dans les raisins au cours de la maturation du fruit et sont impliquées dans les mécanismes de défense du végétal vis-à-vis des agents pathogènes, principalement des champignons (Robinson et Davies, 2000). Elles sont résistantes à la protéolyse liée aux des protéases de levure (Le Bourse *et al.*, 2011). C'est pourquoi ces protéines sont présentes tout au long de la fermentation alcoolique. Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures sur différents cépages (Monteiro *et al.*, 2007; Grimplet *et al.*, 2009; Abdallah *et al.*, 2010; Vincenzi *et al.*, 2014; Esteruelas *et al.*, 2015; Fraige *et al.*, 2015; Meier *et al.*, 2016), ainsi que sur le protéome des pellicules de la baie de raisin dans différentes conditions de culture, où la plupart des protéines surexprimées au stade maturité sont impliquées dans la pathogénèse (Maldonado *et al.*, 2008; Pasquier *et al.*, 2013) ou la réponse au stress abiotique (Di Carli *et al.*, 2011; Negri *et al.*, 2011).

La bande protéique de masse moléculaire 61-62 kDa (protéine C) est plus intense dans les vins des 3 stades de maturité du Chardonnay 2015. Cette protéine est l'invertase vacuolaire de raisin (Davies et Robinson, 1996; Jégou *et al.*, 2009) et elle a été identifiée dans de précédentes études sur les vins de Champagne (Marchal *et al.*, 1996; Dambrouck *et al.*, 2003; Dambrouck *et al.*, 2005; Marchal *et al.*, 2006).

Certaines études indiquent une diminution de l'abondance de protéines impliquées dans la glycolyse après le stade de véraison dans la pulpe, les graines et la pellicule de raisin (Giribaldi *et al.*, 2007; Fortes *et al.*, 2011; Martínez-Esteso *et al.*, 2011). Cependant, d'autres études ont rapporté une augmentation de ces protéines dans la pellicule du raisin (Negri *et al.*, 2008; Kambiranda *et al.*, 2014), démontrant qu'il est difficile d'établir un modèle général de leurs évolutions.

Les résultats obtenus suggèrent que la teneur en protéines totales (par la méthode SDS-PAGE et la méthode de Bradford modifiée) dans les vins de Chardonnay 2015 augmente du stade de maturité I au stade de maturité III. Ceci a également été observé par différents auteurs au cours de la maturation des raisins (Ferenczi, 1966; Burroughs, 1971; Luis, 1985; Deytieux *et al.*, 2007; Giribaldi *et al.*, 2007; Negri *et al.*, 2008; Martínez-Esteso *et al.*, 2011; Martínez-Esteso *et al.*, 2013; Kambiranda *et al.*, 2014). Ces augmentations de la teneur en protéines pourraient s'expliquer par l'induction de gènes liés à la synthèse de métabolites secondaires qui concernent le transport des sucres dans les baies et le métabolisme cellulaire de la paroi au cours de la maturation (da Silva *et al.*, 2005; Terrier *et al.*, 2005; Pilati *et al.*, 2007; Lund *et al.*, 2008; Deluc *et al.*, 2009; Zenoni *et al.*, 2010).

Par rapport à la méthode SDS-PAGE, ce qu'il faut noter avec la méthode de Bradford modifiée, c'est la forte augmentation de la teneur en protéines solubles totales lorsqu'on passe de S4 à S5. Cela pourrait être expliqué par une libération de polyphénols lors de l'opération de décompactage manuel du « gâteau » (opération équivalant à une retrousse sur les pressoirs industriels). Or, les polyphénols, qui ne sont pas complètement pris en considération par la correction apportée à la méthode de Bradford, réagissent avec le Bleu Brillant de Coomassie et « faussent » ainsi les résultats obtenus pour les vins issus des jus extraits en fin de cycle de pressurage, proches de la pellicule.

2. Les moûts et vins de Pinot meunier de la vendange 2015

2.1. Les moûts

2.1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts

La composition des moûts de Pinot meunier 2015 et le rapport sucres/acidité totale (S/A.T.) sont présentés dans la Figure 48 et le Tableau 27.

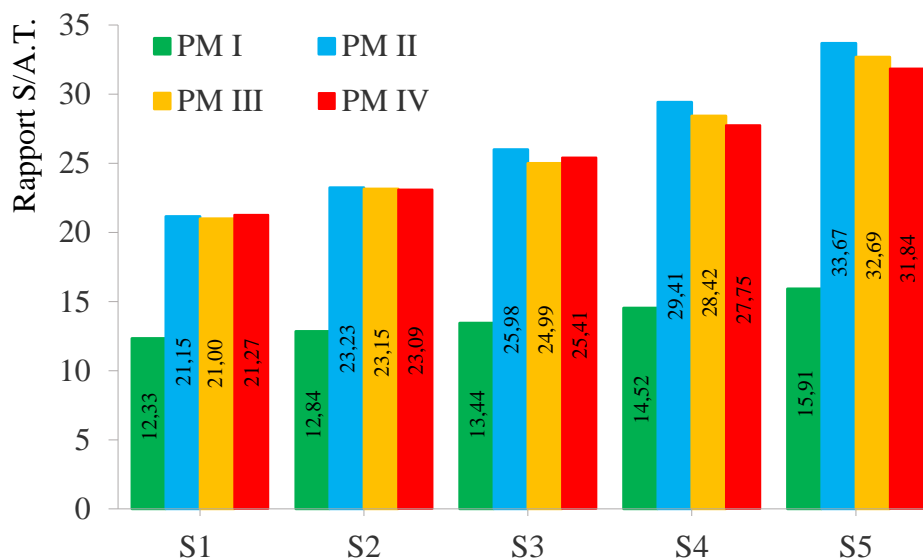


Figure 48. Comparaison du rapport sucres/acidité totale (S/A.T.) des moûts issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Tableau 27. Composition des moûts durant le pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)
S1	2,90	10,8	23	10,2	8,2	133,2	303	148	155	73	1162
S2	2,92	10,4	27	9,7	8,0	133,5	252	119	132	86	1381
S3	2,95	9,7	23	9,1	8,2	130,4	251	122	130	77	1351
S4	2,99	8,8	20	8,0	7,9	127,8	235	113	122	80	1377
S5	3,07	7,9	22	7,2	8,0	125,7	242	112	130	84	1380
S1	2,97	7,9	34	7,0	7,0	167,1	302	142	160	45	1179
S2	3,08	7,4	34	6,7	7,1	171,9	291	124	167	51	1517
S3	3,12	6,5	33	6,3	6,0	168,9	302	124	178	52	1102
S4	3,20	5,6	27	5,9	5,0	164,7	288	114	174	59	1351
S5	3,32	4,9	25	5,5	4,6	165	290	108	182	63	1351
S1	3,05	8,6	57	7,2	8,2	180,6	291	133	158	60	1508
S2	3,10	7,9	42	6,7	7,8	182,9	306	130	176	61	1470
S3	3,14	7,2	38	6,3	7,5	179,9	308	125	183	56	1546
S4	3,21	6,4	37	5,8	6,9	181,9	297	111	186	60	1652
S5	3,33	5,4	41	5,3	5,9	176,5	308	108	200	73	1570
S1	2,96	8,6	36	7,2	9,4	182,9	333	156	177	61	1262
S2	3,05	7,8	27	6,8	8,9	180,1	331	143	188	67	1464
S3	3,11	7,1	27	6,0	8,7	180,4	320	137	183	62	1228
S4	3,17	6,4	24	5,5	7,8	177,6	331	134	197	60	1584
S5	3,26	5,6	35	5,0	7,8	178,3	318	120	198	67	1428

Au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015, nos résultats montrent une augmentation du rapport S/A.T. (Figure 48). Au stade de maturité I, sa valeur augmente par exemple de 12 à 16 du moût S1 PM I au moût S5 PM I.

Concernant la maturité, on note que ce rapport augmente du stade de maturité I au stade de maturité II, il est stable ensuite jusqu'au stade de maturité IV.

L'acidité totale et la concentration en acide malique diminuent aussi au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015 (Tableau 27). Par exemple, l'acidité totale des moûts S1 PM I et S1 PM IV sont respectivement de 10,8 g/L H₂SO₄ et de 8,6 g/L H₂SO₄. Au cours du pressurage, elle diminue respectivement de 27% et de 35% dans les moûts S5 PM I (7,9 g/L H₂SO₄) et S5 PM IV (5,6 g/L H₂SO₄) par rapport aux fractions S1.

La concentration en acide tartrique des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015 diminue au cours du pressurage (Tableau 27). Selon la maturité des raisins, sa concentration diminue du moût de PM I au moût de PM II, puis elle augmente du moût de PM II au moût de PM IV. Par exemple, dans le moût S1, sa teneur diminue du moût S1 PM I (8,2 g/L) au moût S1 PM II (7,0 g/L) et elle augmente de 23% dans le moût S1 PM IV (9,4 g/L H₂SO₄).

Néanmoins, la concentration en sucres des moûts de Pinot meunier 2015 est stable au cours du pressurage mais augmente selon la maturité des raisins. Au stade de maturité I, leur concentration varie de 125,7 à 133,5 g/L du moût S1 PM I au moût S5 PM I. Elle augmente dans les moûts de PM IV (de 177,6 à 182,9 g/L).

La concentration en potassium des moûts de PM I et PM III augmente légèrement du début à la fin du pressurage. Elle est faible dans les moûts S1 et S3 des stades de maturité II et IV. La concentration en potassium augmente au cours de la maturation des raisins. Par exemple, sa valeur est de 1162 mg/L dans le moût S1 PM I, tandis que celle du moût S1 PM III est de 1508 mg/L.

La concentration en calcium augmente au cours du pressurage, mais diminue au cours de la maturation des raisins. Par exemple, au stade de maturité I, sa valeur augmente de 73 à 84 mg/L du moût S1 PM I au moût S5 PM I, tandis qu'au stade de maturité III, elle augmente de 60 mg/L (S1 PM III) à 73 mg/L (S5 PM III).

2.1.2. Corrélations entre les paramètres œnologiques des moûts

2.1.2.1. Le stade de maturité I (PM I)

Le Tableau 28 présente les corrélations entre les paramètres des moûts de PM I au cours du pressurage. Le pH et l'acidité totale présentent une forte corrélation ($R^2 = 0,971$) et ces deux paramètres montrent de fortes corrélations avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,958$, $R^2 =$

0,997, respectivement) et la concentration en sucres ($R^2 = 0,928$, $R^2 = 0,973$, respectivement). De plus, une forte corrélation a été trouvée entre la concentration en acide malique et la concentration en sucres ($R^2 = 0,964$) dans les moûts durant le pressurage des raisins PM I.

Le rapport S/A.T. est fortement corrélé avec le pH ($R^2 = 0,964$), l'acidité totale ($R^2 = 0,990$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,985$) et la concentration en sucres ($R^2 = 0,949$) des moûts durant le pressurage des raisins PM I.

La concentration en azote ammoniacal est fortement corrélée avec la concentration en azote assimilable ($R^2 = 0,978$) et les concentrations de ces deux composés sont fortement corrélées avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,978$, $R^2 = 0,917$, respectivement) et la concentration en potassium ($R^2 = 0,943$, $R^2 = 0,955$, respectivement). Une forte corrélation a également été trouvée entre la concentration en potassium et la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,989$), au cours du pressurage des raisins PM I.

2.1.2.2. Le stade de maturité II (PM II)

Les résultats obtenus dans le Tableau 29 montrent que la concentration en acides, le pH, la concentration en calcium et le rapport S/A.T. présentent de fortes corrélations au cours du pressurage des raisins PM II.

La concentration en azote ammoniacal est fortement corrélée, au cours du pressurage, avec le pH ($R^2 = 0,935$), l'acidité totale ($R^2 = 0,865$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,885$), la concentration en calcium ($R^2 = 0,950$) et le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,859$). Une forte corrélation est également observée entre la concentration en calcium et le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,960$), au cours du pressurage des raisins PM II.

La concentration en azote assimilable, en azote alpha-aminé, en sucres et en calcium montrent de faibles corrélations avec les autres paramètres analysés dans les moûts de PM II.

2.1.2.3. Le stade de maturité III (PM III)

Les résultats obtenus pour le stade de maturité PM III (Tableau 30) montrent que le pH est fortement corrélé avec l'acidité totale ($R^2 = 0,978$), la concentration en acide malique ($R^2 = 0,959$), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 1$), la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,902$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,884$) et également avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,996$).

Une forte corrélation est également observée entre les concentrations en acide malique et en acide tartrique ($R^2 = 0,953$) dans les moûts de PM II, au cours du pressurage. La concentration de ces deux acides présentent de fortes corrélations avec la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,937$, $R^2 = 0,901$, respectivement), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,940$, $R^2 = 0,875$, respectivement) et également avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,977$, $R^2 = 0,994$, respectivement).

De plus, le rapport S/A.T. est fortement corrélé avec la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,936$) et la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,889$).

La concentration en acide gluconique, en sucres, en azote assimilable, en calcium, en potassium montrent de faibles corrélations avec les autres paramètres analysés pour les moûts de PM III.

2.1.2.4. Le stade de maturité IV (PM IV)

Le Tableau 31 présente les corrélations entre les paramètres mesurés pour les moûts de PM IV, au cours du pressurage.

Le pH et l'acidité totale présentent de fortes corrélations avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,972$, $R^2 = 0,986$, respectivement), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,902$, $R^2 = 0,922$, respectivement), la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,980$, $R^2 = 0,962$, respectivement) et également avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,976$, $R^2 = 0,977$, respectivement). Une forte corrélation est observée entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,997$), au cours du pressurage des raisins PM IV.

La concentration en acide malique est fortement corrélée avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,913$), la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,919$) et également avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,959$). De plus, la concentration en acide tartrique est fortement corrélée avec la concentration en sucres ($R^2 = 0,925$), la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,910$) et aussi avec le rapport S/A.T. ($R^2 = 0,866$).

Au cours du pressurage des raisins PM IV, de fortes corrélations entre le rapport S/A.T. et la concentration en azote ammoniacal ($R^2 = 0,947$), la concentration en azote alpha-aminé et la concentration en sucres ($R^2 = 0,933$) sont observées.

La concentration en acide gluconique, en azote assimilable, en calcium, en potassium montrent de faibles corrélations avec les autres paramètres analysés pour les moûts de PM IV.

Tableau 28. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM I 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,971 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,275	0,367	1									
Acide malique (g/L)	0,958 ^a	0,997 ^a	0,367	1								
Acide tartrique (g/L)	0,271	0,329	0,048	0,382	1							
Sucres (g/L)	0,928 ^a	0,973 ^a	0,519	0,964 ^a	0,247	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,440	0,543	0,050	0,570	0,513	0,437	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,514	0,590	0,028	0,617	0,553	0,460	0,978 ^a	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,333	0,450	0,063	0,479	0,486	0,367	0,978 ^a	0,917 ^a	1			
Calcium (mg/L)	0,212	0,186	0,140	0,206	0,505	0,078	0,489	0,607	0,389	1		
Potassium (mg/L)	0,333	0,393	2E-04	0,415	0,451	0,271	0,943 ^a	0,955 ^a	0,898 ^b	0,662	1	
Sucres/Acidité totale	0,993 ^a	0,990 ^a	0,311	0,985 ^a	0,328	0,949 ^a	0,494	0,560	0,391	0,218	0,368	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 29. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM II 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,953 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,837	0,893 ^b	1									
Acide malique (g/L)	0,971 ^a	0,998 ^a	0,880 ^b	1								
Acide tartrique (g/L)	0,848	0,964 ^a	0,915 ^a	0,944 ^a	1							
Sucres (g/L)	0,289	0,452	0,647	0,411	0,630	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,452	0,363	0,469	0,373	0,282	0,070	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,935 ^a	0,865 ^b	0,715	0,885 ^b	0,725	0,157	0,596	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,807	0,806	0,503	0,823	0,703	0,142	0,127	0,755	1			
Calcium (mg/L)	0,978 ^a	0,954 ^a	0,888 ^b	0,963 ^a	0,868 ^b	0,336	0,562	0,950 ^a	0,721	1		
Potassium (mg/L)	0,077	0,016	0,049	0,023	4E-05	0,055	0,694	0,173	0,001	0,113	1	
Sucres/Acidité totale	0,976 ^a	0,985 ^a	0,907 ^a	0,991 ^a	0,932 ^a	0,432	0,378	0,859 ^b	0,781	0,960 ^a	0,029	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 30. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM III 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,978 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,329	0,453	1									
Acide malique (g/L)	0,959 ^a	0,996 ^a	0,511	1								
Acide tartrique (g/L)	1,000 ^a	0,973 ^a	0,316	0,953 ^a	1							
Sucres (g/L)	0,494	0,407	4E-04	0,352	0,496	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,237	0,256	0,471	0,269	0,228	0,121	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,902 ^a	0,936 ^a	0,380	0,937 ^a	0,901 ^a	0,282	0,084	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,884 ^b	0,927 ^a	0,631	0,940 ^a	0,875 ^b	0,318	0,505	0,773	1			
Calcium (mg/L)	0,600	0,452	0,001	0,405	0,614	0,527	0,087	0,383	0,368	1		
Potassium (mg/L)	0,362	0,455	0,261	0,473	0,357	0,038	0,017	0,656	0,282	0,013	1	
Sucres/Acidité totale	0,996 ^a	0,990 ^a	0,365	0,977 ^a	0,994 ^a	0,444	0,217	0,936 ^a	0,889 ^b	0,546	0,421	1

a : R² ≥ 0,9 ; b : 0,85 ≤ R² < 0,9

Tableau 31. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins PM IV 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Azote ammoniacal (mg/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Sucres/Acidité totale
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,997 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,018	0,021	1									
Acide malique (g/L)	0,972 ^a	0,986 ^a	0,022	1								
Acide tartrique (g/L)	0,902 ^a	0,922 ^a	0,082	0,913 ^a	1							
Sucres (g/L)	0,789	0,979 ^a	0,239	0,759	0,925 ^a	1						
Azote assimilable (mg/L)	0,492	0,469	0,026	0,479	0,213	0,123	1					
Azote ammoniacal (mg/L)	0,980 ^a	0,962 ^a	0,011	0,919 ^a	0,813	0,724	0,580	1				
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,802	0,802	0,079	0,735	0,910 ^a	0,933 ^a	0,110	0,746	1			
Calcium (mg/L)	0,098	0,068	0,058	0,024	0,015	0,034	0,147	0,180	0,102	1		
Potassium (mg/L)	0,227	0,232	0,217	0,187	0,455	0,613	0,071	0,174	0,663	0,020	1	
Sucres/Acidité totale	0,976 ^a	0,977 ^a	6E-05	0,959 ^a	0,866 ^b	0,693	0,496	0,947 ^a	0,756	0,091	0,185	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

2.1.3. Cinétiques fermentaires des moûts

La durée de fermentation alcoolique des vins des 4 stades de maturité du Pinot meunier est présentée dans la Figure 49.

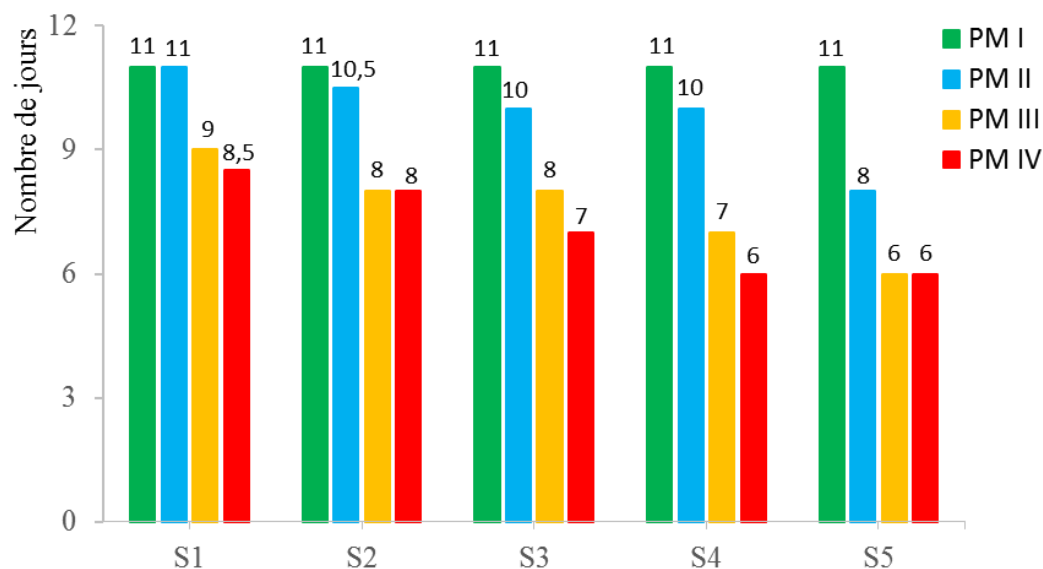


Figure 49. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Nos résultats montrent que la durée de fermentation des moûts de PM I est stable, mais aussi la plus longue des 4 stades étudiés (11 jours). La durée de FA des moûts des stades de maturité II, III et IV diminue respectivement de 11 à 8 jours, de 9 à 6 jours et de 8 à 6 jours au cours du pressurage.

Nos résultats montrent que la durée de fermentation diminue au cours de la maturation des raisins, par exemple, dans le vin S1 : elle passe de 11 jours pour S1 PM I à 8,5 jours pour S1 PM IV, et de 11 jours pour S5 PM I à 6 jours pour S5 PM IV. Il s'agit ici de microvinifications, mais on voit que les durées sont comparables à ce qu'on observe à l'échelle industrielle.

2.1.4. Discussion sur les moûts

Les résultats obtenus pour les raisins Pinot meunier 2015 montrent que la concentration en sucres augmente dans les moûts de PM I à PM IV, tandis que l'acidité totale, les teneurs en acides malique et tartrique diminuent du moût PM I au moût PM III, comme cela été observé dans de précédentes études (Hulme, 1954; Coombe et Nii, 1983; Hrazdina *et al.*, 1984; Coombe, 1992; Topalovic et Mikulic-Petkovsek, 2010; Gil *et al.*, 2012; Reynier, 2012).

Le rapport S/A.T. augmente au cours de la maturation des raisins Pinot meunier 2015. Ce rapport augmente rapidement du stade de maturité I (PM I) au stade de maturité II (PM II) puis reste stable jusqu'au stade de maturité IV (PM IV). Des observations similaires ont été faites au cours d'une précédente étude sur des vin effervescents (Jones *et al.*, 2014).

Au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015, la concentration en sucres est stable tandis que l'acidité totale, la concentration en acide tartrique et également la concentration en acide malique diminuent fortement comme cela a été observée dans de précédentes études (Yokotsuka, 1990; Darias-Martin *et al.*, 2004; Reynier, 2012).

Comme pour la concentration en sucres, nos résultats montrent que les concentrations en acides aminés libres, en azote assimilable et également en azote ammoniacal augmentent dans les moûts de PM I à PM IV ; leurs concentrations sont les plus élevées dans les moûts de PM IV. Une augmentation de la concentration en azote alpha-aminé, en azote assimilable et également en azote ammoniacal du stade de maturité I au stade de maturité II pourrait être expliqué par les conditions culturales, le porte-greffe, la nature des sols et du cépage (Blouin et Gimberteau, 2000), l'ensemble de ces paramètres pouvant impacter la maturation des raisins de Pinot meunier 2015.

La concentration en calcium diminue tandis que celle en potassium augmente dans les moûts de PM III par rapport aux moûts de PM I. La diminution de la concentration en calcium au cours de la maturation semble être nécessaire à la solubilisation et la dépolymérisation de la pectine pariétale par des polygalacturonases (Cabanne et Donèche, 2001). La concentration en potassium augmente au cours de la maturation des raisins Pinot meunier 2015, comme cela a été observé dans une étude antérieure sur un vin de Bordeaux (Pasquier, 2014).

La concentration en acide gluconique augmente selon la maturité des raisins mais diminue au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015. C'est un marqueur de la contamination par *Botrytis cinerea* sur les baies des raisins. Cette augmentation de concentration en acide gluconique pourrait être expliqué par des mécanismes de défense des baies qui diminuent au cours de la maturation des raisins à mettre en relation avec des prélèvements qui ont entraîné le développement de *Botrytis cinerea* ainsi que les conditions météorologiques défavorables au cours des jours qui ont précédé le prélèvement des raisins Pinot meunier 2015 (Pezet *et al.*, 2003).

Il est important de noter que les évolutions de composition des moûts sont plus marquées entre le stade de maturité I (prélèvement le 02.09.2015) et le stade de maturité II (prélèvement le 03.09.2015) des raisins Pinot meunier 2015. Cela peut être expliqué par le choix exclusif de grappes saines au moment du prélèvement ou par les conditions météorologiques survenues les jours précédents le prélèvement, les précipitations pouvant entraîner le grossissement des baies (Figure 50) et le développement du champignon *Botrytis cinerea*.

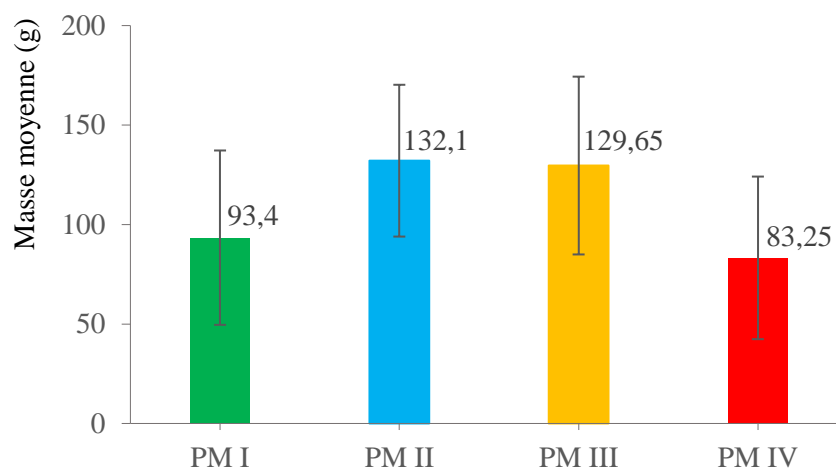


Figure 50. Masse moyenne des grappes prélevées au cours de la maturation des raisins Pinot meunier 2015

Dans les Tableau 28, Tableau 29, Tableau 30 et Tableau 31, on observe, au cours du pressurage, de plus nombreuses fortes corrélations entre les paramètres des moûts issus du stade de maturité II (24), par rapport aux autres stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015 (nombre de corrélations : PM I : 16 ; PM III : 20 ; PM IV : 18).

La durée de la fermentation alcoolique des moûts de PM 2015 diminue des moûts de PM I à PM IV, ainsi qu'au cours du pressurage de S1 à S5. Ces différences sont dues à l'impact de la maturité des raisins qui se traduit par une concentration différente des composés extraits au cours du pressurage ; les moûts de PM III et de PM IV sont riches en composés majeurs pour la FA, tels que l'azote assimilable, les sucres, les minéraux et particulièrement un pH plus élevé plus favorable au développement des levures (Sablayrolles et Salmon, 2009). De plus, les sulfites sont ajoutés à des pH différents ce qui peut avoir un impact sur la cinétique fermentaire des moûts obtenus par fractionnement au pressurage. Ces différentes durées de FA pourrait venir d'une moindre toxicité du SO₂ en raison d'un pH plus élevé pour S5 que pour S1 (Eschenbruch, 1974 ; Herrero *et al.*, 2003).

2.2. Les vins

2.2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins

L'impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015 est présenté dans le Tableau 32.

Tableau 32. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatiles (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	
S1	2,73	9,75	15,0	7,00	5,45	0,15	564,0	52,5	0,35	21,5	
S2	2,76	9,10	15,5	6,65	5,40	0,18	542,0	60,0	0,40	17,5	
S3	PM I	2,79	8,50	13,5	5,95	5,10	0,16	589,0	57,5	0,40	16,0
S4		2,80	8,00	9,0	5,90	4,70	0,14	553,0	61,0	0,10	15,0
S5		2,85	6,60	15,0	4,80	3,80	0,22	473,0	66,0	0,70	15,0
S1		2,81	7,60	30,5	5,85	4,35	0,13	483,5	40,5	0,25	20,5
S2		2,88	6,85	19,5	5,60	3,60	0,14	569,0	45,0	0,15	23,0
S3	PM II	2,97	6,45	19,0	5,40	3,45	0,12	558,0	46,0	0,10	18,5
S4		3,05	5,50	18,0	5,20	2,40	0,08	509,0	51,0	0,10	21,0
S5		3,18	4,80	23,0	4,60	2,30	0,04	545,0	58,0	0,10	22,0
S1		2,82	7,70	31,5	6,15	4,60	0,15	515,5	36,0	1,05	18,5
S2		2,88	7,05	19,0	5,80	4,10	0,16	595,5	39,0	0,45	19,5
S3	PM III	2,94	6,35	17,5	5,40	3,50	0,13	526,0	37,0	0,15	19,0
S4		3,01	5,50	17,0	5,20	2,80	0,07	615,0	41,0	0,20	22,0
S5		3,16	4,70	20,0	4,50	2,00	0,07	635,0	53,0	0,30	19,0
S1		2,85	7,90	18,0	5,85	5,25	0,27	602,5	45,5	2,55	47,5
S2		2,93	6,75	15,0	5,25	4,50	0,12	584,5	52,5	0,20	41,5
S3	PM IV	2,91	6,05	12,5	4,75	3,65	0,10	544,5	50,0	0,80	25,5
S4		3,00	5,20	15,0	4,50	2,90	0,07	517,0	50,0	0,40	26,0
S5		3,07	4,60	22,0	4,00	2,30	0,04	626,0	54,0	0,30	20,0

L'acidité totale des vins aux 4 stades de maturité diminue au cours du pressurage (Tableau 32). Selon la maturité des raisins, sa valeur diminue du stade de maturité I au stade de maturité II. A partir du stade de maturité II, elle est stable jusqu'au stade de maturité IV. Par exemple, dans les vins du stade de maturité I, sa valeur diminue de 9,8 (S1 PM I) à 6,6 g/L H₂SO₄ (S5 PM I), tandis que celle du stade de maturité II diminue de 7,6 g/L H₂SO₄ (vins S1 PM II) à 4,8 g/L H₂SO₄ (vins S5 PM II). D'autre part, le pH des vins de PM IV est plus élevé que celui des autres stades de maturité des raisins.

La concentration en acide tartrique des vins diminue au cours du pressurage, et celle-ci est plus élevée dans les vins du stade de maturité I. Elle diminue ensuite dans les vins de PM II, puis augmente jusqu'au stade de maturité IV. Sa concentration diminue de 5,5 à 3,8 g/L dans les vins PM I, et de 4,6 à 2,0 g/L dans les vins PM III de S1 à S5.

La concentration en potassium des vins de Pinot meunier 2015 varie de 473 à 564 mg/L dans les vins de PM I, et de 517 à 626 mg/L dans les vins de PM IV.

La concentration en calcium des vins aux 4 stades de maturité augmente au cours du pressurage et diminue selon la maturité des raisins. Par exemple, dans les vins du stade de maturité I, sa valeur augmente de 26% du vin S1 PM I (52,5 mg/L) au vin S5 PM I (66,0 mg/L), tandis que pour les vins du stade de maturité III, celle-ci augmente de 47% du vin S1 PM III (36 mg/L) au vin S5 PM III (53 mg/L).

Tandis que la concentration en azote alpha-aminé des vins des 3 stades de maturité PM I, PM II, PM III est stable, celle des vins de PM IV diminue au cours du pressurage ; elle passe de 47,5 mg/L (S1 PM IV) à 20,0 mg/L (S5 PM IV). Pour les vins de PM III, les concentrations sont respectivement de 18,5 mg/L (S1 PM III) et de 19,0 mg/L (S5 PM III).

L'acidité volatile des vins de PM II, PM III et PM IV diminue respectivement de 68%, 53% et 85%, au cours du pressurage, tandis que celle des vins de PM I augmente de 52% du vin S1 PM I au vin S5 PM I.

La concentration en acide gluconique des vins de PM I, de PM II et de PM III diminue dans les vins de S1 à S4, puis elle augmente dans les vins S5. Sa concentration est plus faible dans les vins de PM I par rapport à celle des vins de PM III ; par exemple sa teneur est respectivement de 31,5 mg/L dans le vin S1 PM III et de 15,0 mg/L dans le vin S1 PM I.

Alors que la concentration en sucres des vins de PM II est stable, celle des vins de PM III et de PM IV diminue au cours du pressurage. La concentration en sucres des vins de PM I est plus faible que celle des vins de PM IV (excepté dans les vins S2 et S5). Par exemple, leur teneur dans les vins S1 PM I et S1 PM IV est respectivement de 0,35 g/L et de 2,55 g/L. Ces valeurs restent toutefois proches d'une fin de FA complète.

2.2.2. Caractéristiques chromatiques des vins

Les caractéristiques chromatiques des vins de base de Pinot meunier 2015 par la méthode de référence (CIEL*a*b*) sont présentées dans le Tableau 33.

Tableau 33. Caractéristiques œnologique des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (méq)	Conductivité (μ S/cm)
S1	89,628	-2,704	16,742	0,071	0,014	0,005	7,567	1731
S2	88,024	-2,504	20,559	0,089	0,020	0,008	7,367	1724
S3 PM I	87,835	-2,142	21,823	0,094	0,020	0,008	7,133	1691
S4	87,070	-1,686	24,228	0,106	0,022	0,007	8,967	1781
S5	88,715	-2,216	22,675	0,095	0,018	0,005	11,100	1510
S1	90,988	-1,833	13,727	0,055	0,011	0,005	8,167	1647
S2	89,209	-1,489	17,123	0,073	0,018	0,007	8,033	1643
S3 PM II	86,938	-0,160	22,017	0,100	0,026	0,008	8,550	1641
S4	86,943	1,850	20,403	0,091	0,028	0,007	10,367	1575
S5	81,011	5,499	30,574	0,157	0,051	0,014	11,733	1636
S1	90,810	-0,622	13,890	0,062	0,017	0,006	7,850	1564
S2	89,459	-0,497	16,229	0,067	0,017	0,004	8,183	1557
S3 PM III	88,453	0,160	18,275	0,079	0,022	0,005	8,100	1604
S4	88,142	1,475	17,908	0,079	0,024	0,006	10,067	1524
S5	84,957	3,733	23,129	0,109	0,037	0,010	10,033	1641
S1	88,494	1,020	14,969	0,067	0,022	0,005	8,850	1778
S2	85,528	0,847	20,257	0,099	0,033	0,015	8,017	1700
S3 PM IV	87,376	0,360	19,480	0,083	0,025	0,008	8,333	1568
S4	89,160	-0,447	16,700	0,068	0,018	0,005	8,700	1525
S5	86,586	2,956	20,258	0,082	0,028	0,007	10,400	1485

Nos résultats montrent que la luminosité L* est relativement stable au cours de la maturation des raisins. Le paramètre a* des vins de PM I, de PM II et de PM III augmente au cours du pressurage ; à l'inverse, celui du PM IV diminue du vin S1 PM IV au vin S4 PM IV, puis augmente du vin S4 PM IV (-0,447) au vin S5 PM IV (2,956). Sa valeur dans les vins de PM I est plus faible que celle du PM II, du PM III et du PM IV. Par exemple, pour le vin S1 PM I, sa valeur est de -2,704, pour les vins : S1 PM II : -1,833, S1 PM III : -0,622, et S1 PM IV : 1,020.

Au cours du pressurage, le paramètre b^* des vins de PM I, de PM II et de PM III augmente de 35%, 123% et 67% lorsqu'on passe de S1 à S5. Au stade de maturité IV, sa valeur augmente du vin S1 PM IV (14,969) au vin S2 PM IV (20,257), puis diminue jusqu'au vin S4 PM IV (16,700).

Concernant les caractéristiques chromatiques mesurées par la méthode usuelle (A_{420} , A_{520} , A_{620}), excepté pour les vins de PM IV, les valeurs de A_{420} , A_{520} et A_{620} des vins des 3 autres stades de maturité (PM I, PM II et PM III) augmentent de S1 à S4. Ensuite, ces valeurs augmentent fortement du vin S4 au vin S5. Ces changements entre les vins S4 et S5 sont plus marqués dans les vins de PM II (A_{420} : +72%, A_{520} : +83%, A_{620} : +105%) par rapport aux 3 autres stades de maturité.

La conductivité des vins de PM I, de PM II, de PM III diminue selon la maturité des raisins et varie de 1731 à 1564 $\mu\text{S}/\text{cm}$. La conductivité des vins de PM IV est assez proche des vins de PM I, en particulier pour les serres 1 et 2.

L'IFC augmente au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015, en particulier de S3 à S5. Techniquement, il faut préciser que le décompactage du système de pressoir en cours d'écrasement se fait à la main (quantité initiale de 6 kg). Après 3-4 serres, on a une « galette » de grappes écrasées, assez compacte, et la séparation des grappes n'est pas sans incidence sur la libération de composés notamment phénoliques et sur les bourbes générées également.

Le Chroma C^* se rapporte à la couleur et à la saturation : $C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$ (Gomez-Miguez *et al.*, 2007; Liang *et al.*, 2011). Les différences de Chroma (C^*) (Figure 51) et de couleur (intensité colorante) (Figure 52) peuvent être perçues par l'œil humain (Gomez-Miguez *et al.*, 2007). Le Chroma a été calculé à partir des paramètres a^* et b^* . L'IC du vin est donnée par la somme des absorbances à 420, 520 et 620 nm. L' ΔE^* est la différence entre le vin 1 et le vin 2 : $\Delta E^* = \sqrt{[(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2]}$ (Gomez-Miguez *et al.*, 2007).

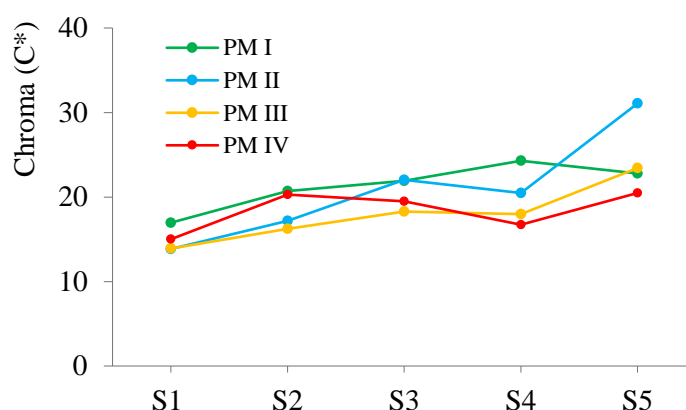


Figure 51. Evolution du chroma (C^*) des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

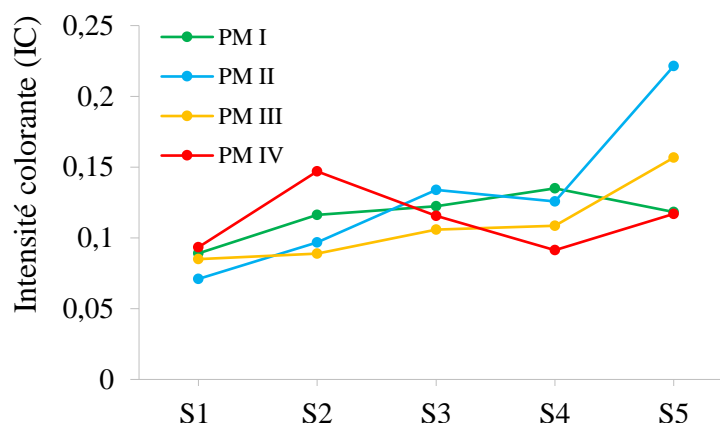


Figure 52. Evolution de l'intensité colorante (IC) des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

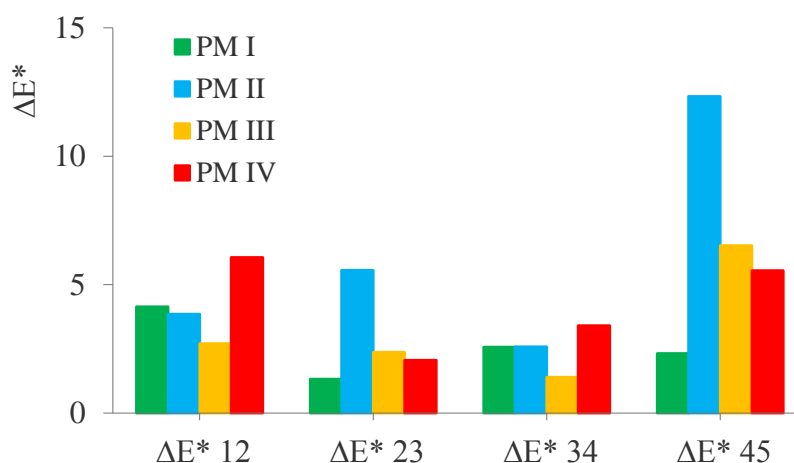


Figure 53. Evolution de la différence de couleur entre deux vins (ΔE^*) issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. ΔE^*12 : différence de couleur entre les vins S1 et S2 ; ΔE^*23 : différence de couleur entre les vins S2 et S3, ΔE^*34 : différence de couleur entre les vins S3 et S4 ; ΔE^*45 : différence de couleur entre les vins S4 et S5

Le Chroma (C^*) (Figure 51) des vins des 4 stades de maturité augmente au cours du pressurage ; sa valeur pour PM I est plus élevée par rapport aux autres stades de maturité ; il varie de 15,0 à 24,3 pour les vins de PM I, tandis que celui des vins de PM II, de PM III et de PM IV est respectivement compris entre 13,9 et 31,1, entre 13,9 et 23,4, entre 15,0 et 20,5.

L'intensité colorante (IC) (Figure 52) des vins des 4 stades de maturité augmente au cours du pressurage ; sa valeur est la plus faible dans le vin S1 PM II (0,07) et la plus élevée dans le vin S5 PM II (0,22). Au cours de la maturation des raisins, l'IC est plus élevée dans les vins de PM II (de

0,07 à 0,22) par rapport aux vins de PM I (de 0,12 à 0,14) et PM III (de 0,09 à 0,16) et de PM IV (de 0,09 à 0,15).

Les différences de couleur (ΔE^*) (Figure 53) des 4 stades de maturité des raisins montrent que la ΔE^* des vins S2 et S3 est plus faible que celle des vins de S4 et S5. Sa valeur est la plus élevée dans le vin PM IV au début du pressurage (ΔE^*_{12} de S1 PM IV : 4,0) et dans le vin de PM II de fin du pressurage (ΔE^*_{45} de S5 PM II : 12,3).

2.2.3. Teneurs en protéines

Les profils protéiques des vins des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015 sont présentés dans les Figure 54 et Figure 55. Les intensités en protéines totales (sommées des protéines, % par rapport S1 PM III) sont reportées dans la Figure 56.

Après révélation au nitrate d'argent, les bandes protéiques des vins des 4 stades de maturité se répartissent dans une large gamme de masses moléculaires, principalement de 15 à 250 kDa, à l'exception de deux bandes protéiques moins intenses situées vers 12 et 15 kDa (Figure 54A, B, C), en particulier dans les profils protéiques des vins de PM III et de PM IV. Trois bandes protéiques majeures sont observées vers 60 kDa, 25 kDa et 17 kDa.

En comparant les 4 stades de maturité (Figure 55), on note que les bandes protéiques A, C, D, E, F, G, I sont plus intenses dans les vins de PM III et de PM IV, tandis que les bandes protéiques B, H et K sont plus intenses dans les vins de PM I.

L'intensité des bandes protéiques J et K pour les vins S1 est plus faible dans les vins de PM IV par rapport à celle des vins de PM I à PM III.

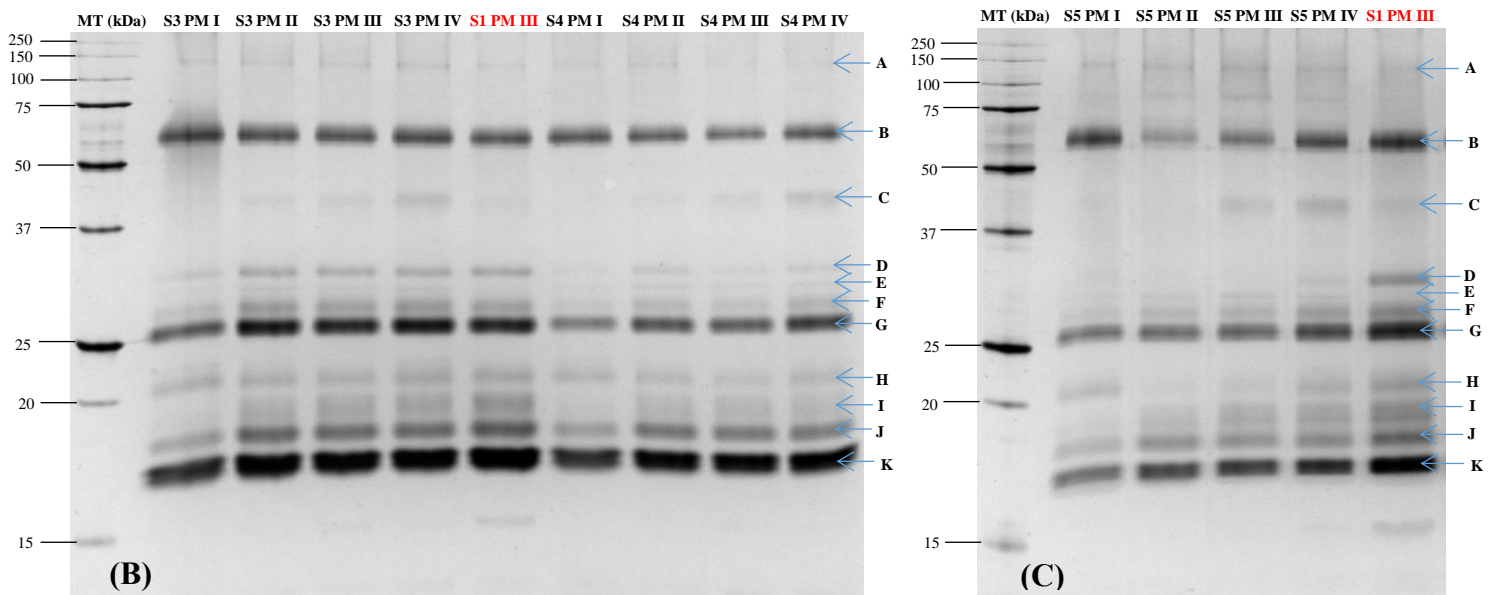
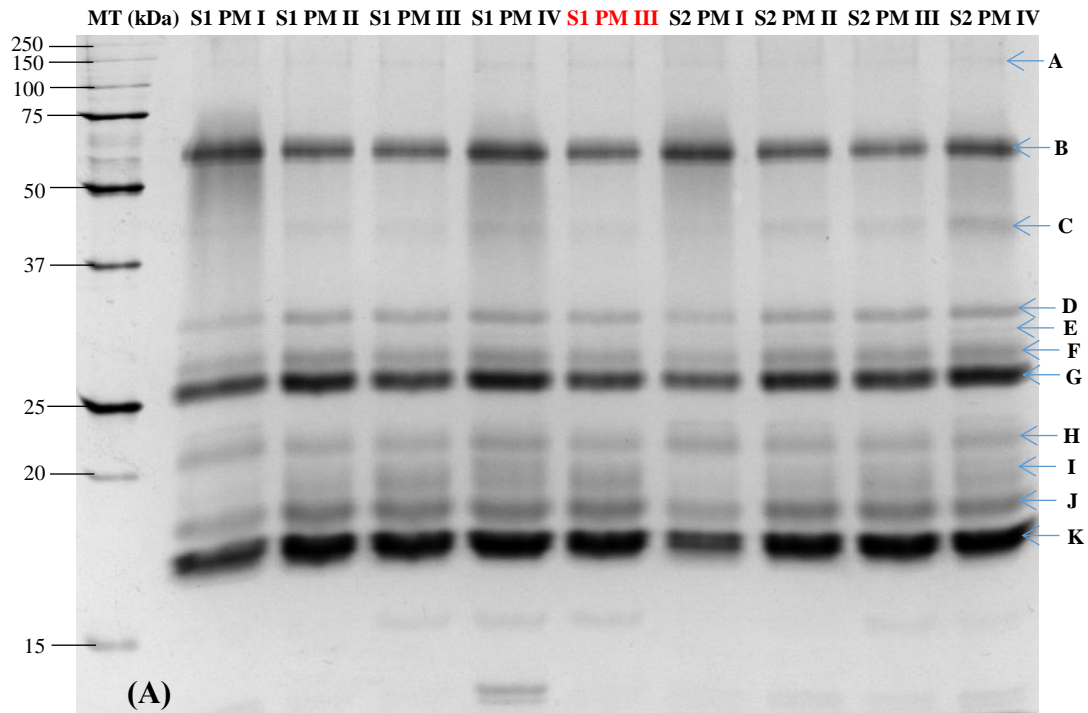


Figure 54. Profil protéique après séparation sur gel SDS-PAGE des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015
(A) Profils protéiques de S1 et S2 aux 4 stades de maturité ; **(B)** Profils protéiques de S3 et S4 aux 4 stades de maturité ; **(C)** Profils protéiques de S5 aux 4 stades de maturité. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. MT, marqueur de taille. SDS-PAGE avec révélation au nitrate d'argent. A, B, ..., K, nom des bandes protéiques

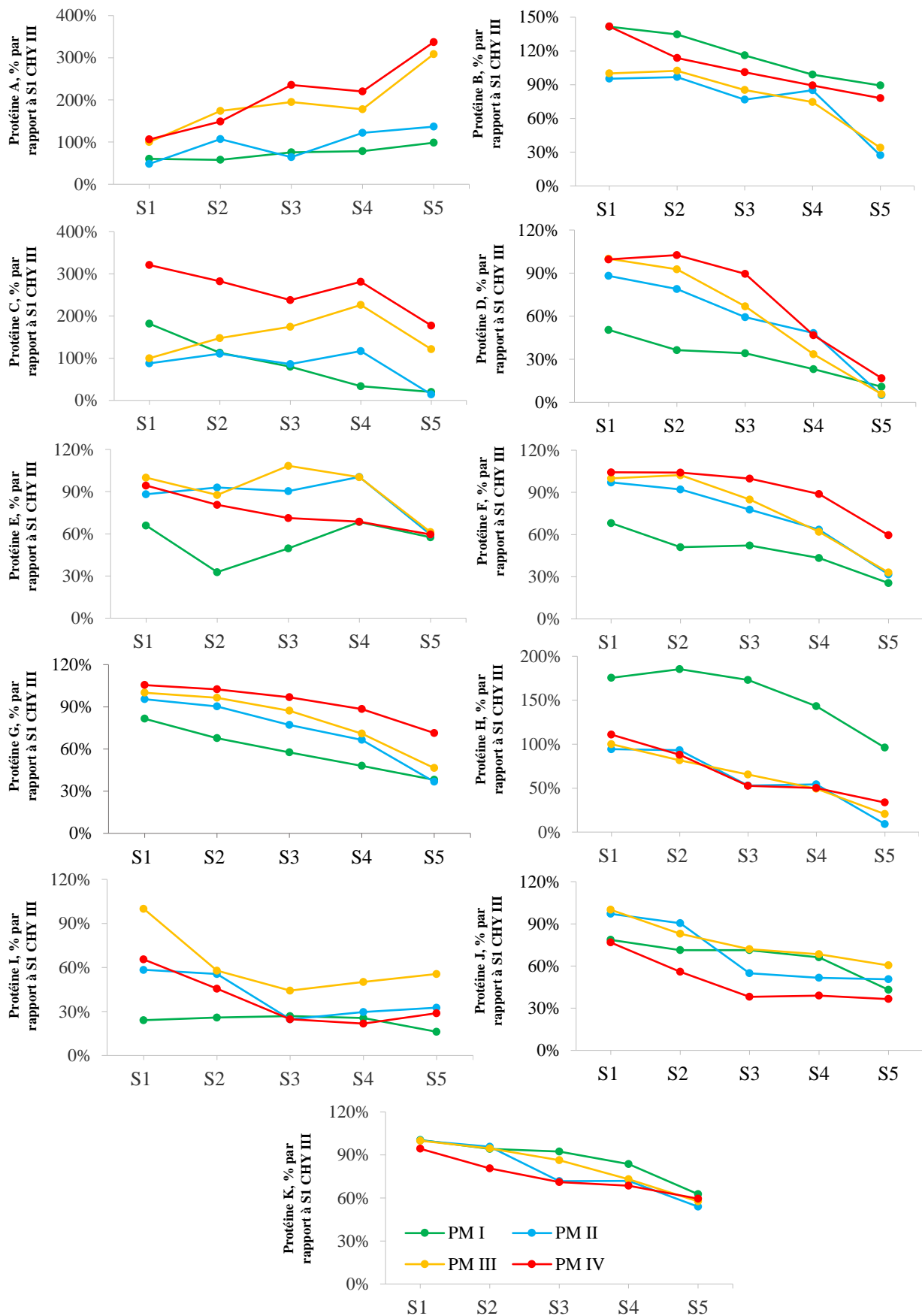


Figure 55. Evolution des protéines majeures (SDS-PAGE, % par rapport à S1 PM III) des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. A, B, ..., K, nom des bandes protéiques

L'intensité des protéines : B, et de D à K, diminue dans les vins de S1 à S5, tandis que celle de la protéine A augmente. Par exemple, dans les vins de PM III, sa valeur est 3 fois plus élevée dans le vin S5 PM III par rapport au vin S1 PM III (309% par rapport à S1 PM III).

Les intensités des protéines totales (sommées des protéines par SDS-PAGE) (Figure 56A) des vins augmentent légèrement au cours de la maturation mais elles diminuent dans les vins de S1 à S5. Leur valeur dans les vins de PM I, de PM II, de PM III, de PM IV de S1 à S5 est respectivement de 100 à 53% par rapport à S1 PM III, de 94 à 40% par rapport à S1 PM III, de 100 à 49% par rapport à S1 PM III, de 101 à 57% par rapport à S1 PM III.

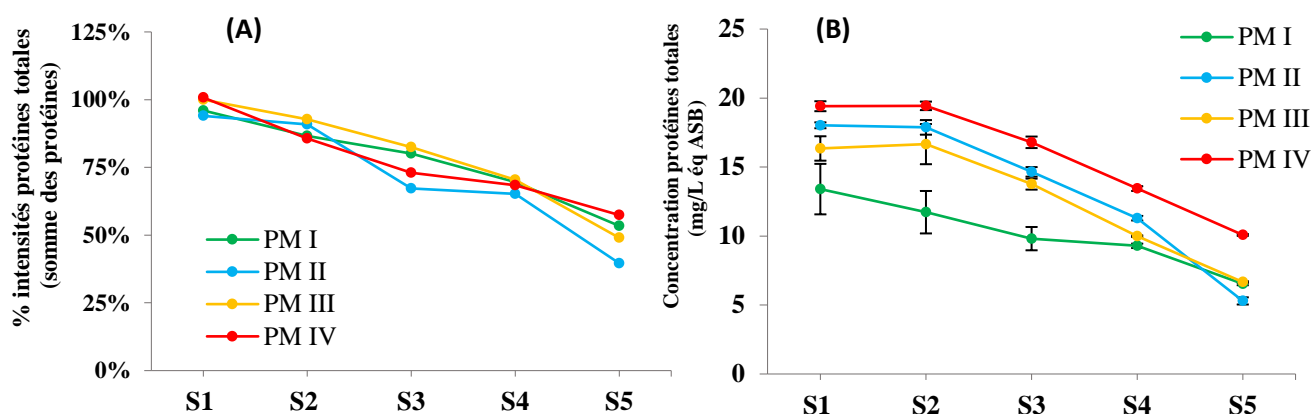


Figure 56. Evolution des protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des 4 stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. (A) SDS-PAGE, % par rapport à S1 PM III ; (B) Dosage par la méthode de Bradford

Les résultats obtenus par la méthode de Bradford (Figure 56B) montrent que la concentration en protéines solubles est plus élevée dans les vins de stade de maturité IV par rapport à celle des vins issus des autres stades de maturité. La teneur en protéines diminue au cours du pressurage ; par exemple, la concentration pour les vins de PM IV varie de $10,1 \pm 0,068$ à $19,4 \pm 0,308$ mg/L équivalent ASB, celle des vins de PM I varie de $6,5 \pm 0,099$ à $13,4 \pm 1,829$ mg/L équivalent ASB des vins S1 à S5. La teneur en protéines totales diminue au cours du pressurage quel que soit le stade de maturité, quel que soit la méthode de dosage utilisée (méthode SDS-PAGE ou méthode de Bradford). Au cours de la maturation des raisins Pinot meunier 2015, le dosage par la méthode SDS-PAGE montre que la teneur en protéines totales est stable, alors que celle obtenue par la méthode de Bradford augmente de PM I à PM IV (excepté PM II).

2.2.4. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des vins

2.2.4.1. Le stade de maturité I

Les résultats du Tableau 34 montrent une forte corrélation entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,988$) des vins de PM I. Ces deux paramètres présentent de fortes corrélations avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,987$, $R^2 = 0,980$, respectivement) et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,903$, $R^2 = 0,955$, respectivement). De plus, la concentration en acide tartrique est fortement corrélée avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,926$) et avec l'IFC ($R^2 = 0,919$).

Les paramètres des vins de PM I fortement corrélés entre eux sont la concentration en acide gluconique, le TAV ($R^2 = 0,910$), le paramètre b^* et la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,954$). La conductivité est également fortement corrélée avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,867$) et avec la concentration en sucres ($R^2 = 0,880$).

L' A_{420} est fortement corrélée avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,915$), avec le paramètre b^* ($R^2 = 0,988$) et avec le paramètre a^* ($R^2 = 0,854$). L' A_{520} est fortement corrélée avec la luminosité L^* ($R^2 = 0,966$) et avec l' A_{420} ($R^2 = 0,875$) des vins de PM I.

2.2.4.2. Le stade de maturité II

Le Tableau 35 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques des vins de PM II. Une forte corrélation a été trouvée entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,982$). Ces deux paramètres sont fortement corrélés avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,975$, $R^2 = 0,943$, respectivement), avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,989$, $R^2 = 0,961$, respectivement) et avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,895$, $R^2 = 0,860$, respectivement). De plus, l'acidité volatile est fortement corrélée avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,896$).

Le pH, la concentration en acide malique et la concentration en calcium sont fortement corrélés entre eux, et avec les paramètres L^* , a^* , b^* , l' A_{420} , l' A_{520} et avec l'IFC des vins de PM II.

L'acidité volatile est fortement corrélée avec l'acidité totale, et ces deux paramètres présentent de fortes corrélations avec le paramètre a^* ($R^2 = 0,913$, $R^2 = 0,975$, respectivement), l' A_{520} ($R^2 = 0,875$, $R^2 = 0,869$, respectivement) et avec l'IFC ($R^2 = 0,893$, $R^2 = 0,989$, respectivement).

Les paramètres fortement corrélés deux à deux pour les vins PM II sont : les paramètres L^* , a^* , b^* , l' A_{420} , l' A_{520} et l' A_{620} .

2.2.4.3. Le stade de maturité III

Les coefficients de corrélation des vins de PM III sont présentés dans le Tableau 36. De fortes corrélations ont été trouvées entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,968$), et entre la concentration en acide tartrique et en acide malique ($R^2 = 0,979$). Le pH et l'acidité totale sont fortement corrélés avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,990$ et $R^2 = 0,970$, respectivement) et également avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,981$ et $R^2 = 0,998$, respectivement).

L'acidité volatile est fortement corrélée avec l'IFC ($R^2 = 0,901$), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,865$) et avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,858$). La concentration en acide gluconique est fortement corrélée avec le TAV ($R^2 = 0,952$) et avec la concentration en sucres ($R^2 = 0,945$). De plus, une forte corrélation entre le TAV et la concentration en sucres ($R^2 = 0,914$) est observée pour les vins de PM III.

Nos résultats montrent que le pH, l'acidité totale, les concentrations en acide malique, en acide tartrique et en calcium sont fortement corrélés avec les paramètres L^* , a^* , b^* , $l'A_{420}$ et $l'A_{520}$ des vins de PM III.

2.2.4.4. Le stade de maturité IV

Les coefficients de corrélation entre les différents paramètres analysés pour les vins de PM IV sont présentés dans le Tableau 37. De fortes corrélations sont observées entre la concentration en acide tartrique et en acide malique ($R^2 = 0,984$), ainsi qu'entre l'acidité totale et le pH ($R^2 = 0,883$). L'acidité totale et le pH sont fortement corrélés avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,987$ et $R^2 = 0,851$, respectivement) et également avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,991$ et $R^2 = 0,869$, respectivement). De plus, l'acidité volatile est fortement corrélée avec l'acidité totale ($R^2 = 0,889$), avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,885$) et avec le TAV ($R^2 = 0,855$).

Nos résultats montrent que la concentration en azote alpha-aminé est fortement corrélée avec la conductivité ($R^2 = 0,979$). Ces deux paramètres sont fortement corrélés avec l'acidité totale ($R^2 = 0,899$ et $R^2 = 0,960$, respectivement), avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,934$ et $R^2 = 0,966$, respectivement) et également avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,919$ et $R^2 = 0,970$, respectivement) des vins de PM IV.

$l'A_{420}$ est fortement corrélée avec le paramètre L^* ($R^2 = 0,902$), $l'A_{520}$ ($R^2 = 0,886$) et $l'A_{620}$ ($R^2 = 0,899$). De plus, $l'A_{520}$ est également fortement corrélée avec le paramètre L^* ($R^2 = 0,987$) des vins de PM IV.

Tableau 34. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM I 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (mécq)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,988 ^a	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,046	0,039	1																	
Acide malique (g/L)	0,987 ^a	0,980 ^a	0,025	1																
Acide tartrique (g/L)	0,903 ^a	0,955 ^a	0,022	0,926 ^a	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,464	0,499	0,279	0,492	0,516	1														
Potassium (mg/L)	0,459	0,551	0,068	0,470	0,653	0,783	1													
Calcium (mg/L)	0,823	0,835	0,015	0,753	0,729	0,572	0,625	1												
TAV (% vol)	0,009	0,011	0,910 ^a	0,001	0,007	0,274	0,028	0,012	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,214	0,229	0,573	0,273	0,265	0,818	0,454	0,191	0,647	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,754	0,681	0,223	0,663	0,483	0,146	0,127	0,710	0,121	0,009	1									
Conductivité (µS/cm)	0,511	0,541	0,240	0,591	0,601	0,867 ^b	0,629	0,402	0,317	0,880 ^b	0,112	1								
L*	0,118	0,079	0,542	0,062	0,012	0,055	0,042	0,162	0,442	0,266	0,572	0,125	1							
a*	0,370	0,331	0,783	0,303	0,230	0,018	2E-4	0,259	0,600	0,170	0,680	0,012	0,711	1						
b*	0,633	0,576	0,409	0,533	0,403	0,050	0,078	0,613	0,292	0,010	0,954 ^a	0,027	0,700	0,836	1					
A420 (nm)	0,525	0,467	0,460	0,423	0,301	0,019	0,040	0,536	0,345	0,036	0,915 ^a	0,004	0,794	0,854 ^b	0,988 ^a	1				
A520 (nm)	0,228	0,170	0,416	0,149	0,055	0,004	0,006	0,288	0,311	0,122	0,721	0,034	0,966 ^a	0,698	0,801	0,875 ^b	1			
A620 (nm)	0,002	0,020	0,157	0,010	0,118	0,155	0,338	7E-06	0,080	0,223	0,185	0,244	0,673	0,209	0,212	0,288	0,628	1		
IFC (mécq)	0,697	0,794	0,011	0,719	0,919 ^a	0,505	0,805	0,643	0,014	0,234	0,281	0,533	0,001	0,127	0,245	0,168	5,5E-3	0,282	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 35. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM II 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha- aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,982 ^a	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,175	0,234	1																	
Acide malique (g/L)	0,975 ^a	0,943 ^a	0,118	1																
Acide tartrique (g/L)	0,898 ^b	0,961 ^a	0,341	0,820	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,895 ^b	0,860 ^b	0,016	0,896 ^b	0,748	1														
Potassium (mg/L)	0,062	0,063	0,429	0,087	0,051	0,001	1													
Calcium (mg/L)	0,970 ^a	0,970 ^a	0,147	0,983 ^a	0,886 ^b	0,892 ^b	0,075	1												
TAV (% vol)	0,601	0,717	0,228	0,531	0,840	0,569	1E-4	0,654	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,632	0,662	0,744	0,548	0,698	0,315	0,363	0,554	0,380	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,013	0,036	0,001	0,038	0,049	0,023	0,037	0,079	0,009	0,003	1									
Conductivité (µS/cm)	0,168	0,245	0,242	0,080	0,408	0,148	0,092	0,136	0,602	0,200	0,001	1								
L*	0,924 ^a	0,859 ^b	0,088	0,976 ^a	0,699	0,837	0,125	0,922 ^a	0,376	0,516	0,018	0,021	1							
a*	0,950 ^a	0,913 ^a	0,047	0,970 ^a	0,788	0,975 ^a	0,017	0,958 ^a	0,555	0,412	0,035	0,104	0,929 ^a	1						
b*	0,896 ^b	0,821	0,111	0,944 ^a	0,657	0,769	0,172	0,874 ^b	0,309	0,562	0,005	0,010	0,989 ^a	0,874 ^b	1					
A420 (nm)	0,884 ^b	0,805	0,079	0,945 ^a	0,633	0,789	0,149	0,874 ^b	0,301	0,503	0,009	0,006	0,993 ^a	0,888 ^b	0,996 ^a	1				
A520 (nm)	0,935 ^a	0,875 ^b	0,078	0,985 ^a	0,718	0,869 ^b	0,101	0,939 ^a	0,410	0,495	0,024	0,029	0,998 ^a	0,951 ^a	0,977 ^a	0,985 ^a	1			
A620 (nm)	0,780	0,699	0,045	0,883 ^b	0,517	0,703	0,195	0,810	0,230	0,400	0,035	0,004	0,955 ^a	0,818	0,957 ^a	0,972 ^a	0,943 ^a	1		
IFC (még)	0,903 ^a	0,893 ^b	0,033	0,892 ^b	0,812	0,989 ^a	0	0,913 ^a	0,670	0,343	0,046	0,206	0,808	0,966 ^a	0,732	0,748	0,843	0,660	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 36. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM III 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,968 ^a	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,284	0,387	1																	
Acide malique (g/L)	0,990 ^a	0,970 ^a	0,341	1																
Acide tartrique (g/L)	0,981 ^a	0,998 ^a	0,351	0,979 ^a	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,778	0,865 ^b	0,206	0,756	0,858 ^b	1														
Potassium (mg/L)	0,594	0,594	0,308	0,536	0,588	0,443	1													
Calcium (mg/L)	0,852 ^b	0,719	0,080	0,795	0,752	0,511	0,629	1												
TAV (% vol)	0,454	0,537	0,952 ^a	0,509	0,054	0,283	0,474	0,228	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,406	0,532	0,945 ^a	0,483	0,486	0,329	0,257	0,127	0,914 ^a	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,060	0,154	0,301	0,054	0,128	0,297	0,263	0,001	0,230	0,239	1									
Conductivité (µS/cm)	0,300	0,181	0,002	0,328	0,207	0,042	0,007	0,382	0,032	0,033	0,433	1								
L*	0,975 ^a	0,906 ^a	0,279	0,978 ^a	0,924 ^a	0,641	0,534	0,871 ^b	0,460	0,401	0,012	0,432	1							
a*	0,961 ^a	0,898 ^b	0,131	0,920 ^a	0,922 ^a	0,787	0,561	0,905 ^a	0,272	0,228	0,037	0,300	0,919 ^a	1						
b*	0,944 ^a	0,875 ^b	0,309	0,964 ^a	0,892 ^b	0,584	0,468	0,819	0,488	0,442	0,004	0,489	0,991 ^a	0,865 ^b	1					
A420 (nm)	0,944 ^a	0,848	0,176	0,944 ^a	0,876 ^b	0,613	0,428	0,878 ^b	0,334	0,299	0,0%	0,531	0,980 ^a	0,925 ^a	0,973 ^a	1				
A520 (nm)	0,946 ^a	0,853 ^b	0,111	0,919 ^a	0,884 ^b	0,696	0,463	0,912 ^a	0,248	0,214	0,004	0,436	0,943 ^a	0,980 ^a	0,909 ^a	0,974 ^a	1			
A620 (nm)	0,653	0,504	0,002	0,602	0,549	0,429	0,234	0,817	0,020	0,010	0,048	0,544	0,676	0,792	0,636	0,782	0,851 ^b	1		
IFC (még)	0,759	0,826	0,226	0,704	0,819	0,901 ^a	0,726	0,600	0,334	0,282	0,389	0,008	0,618	0,775	0,538	0,553	0,648	0,381	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Tableau 37. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM IV 2015

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)	
pH	1																			
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,883 ^b	1																		
Acide gluconique (mg/L)	0,272	0,069	1																	
Acide malique (g/L)	0,851 ^b	0,987 ^a	0,076	1																
Acide tartrique (g/L)	0,869 ^b	0,991 ^a	0,090	0,984 ^a	1															
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,719	0,889 ^b	0,001	0,885 ^b	0,830	1														
Potassium (mg/L)	0,011	0,021	0,650	0,008	0,016	0,054	1													
Calcium (mg/L)	0,611	0,555	0,060	0,574	0,479	0,737	0,034	1												
TAV (% vol)	0,764	0,823	0,005	0,743	0,760	0,855 ^b	0,110	0,573	1											
Glucose + fructose (g/L)	0,510	0,583	0,009	0,557	0,489	0,847	0,055	0,827	0,786	1										
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,641	0,899 ^b	0,017	0,934 ^a	0,919 ^a	0,799	0,048	0,385	0,593	0,421	1									
Conductivité (µS/cm)	0,737	0,960 ^a	0,024	0,966 ^a	0,970 ^a	0,846	0,059	0,421	0,717	0,485	0,979 ^a	1								
L*	0,020	0,003	0,015	0,010	1E-4	0,072	0,260	0,473	0,006	0,231	0,001	0,002	1							
a*	0,199	0,065	0,738	0,100	0,075	0,022	0,834	0,210	4E-6	0,003	0,039	0,029	0,271	1						
b*	0,222	0,258	2E-4	0,312	0,205	0,500	0,040	0,807	0,227	0,623	0,238	0,213	0,719	0,176	1					
A420 (nm)	0,007	0,004	0,028	0,010	2E-4	0,120	0,048	0,467	0,031	0,363	4E-6	2E-4	0,902 ^a	0,058	0,747	1				
A520 (nm)	0,005	0,002	0,014	1E-5	0,011	0,032	0,281	0,392	2E-4	0,176	0,017	0,021	0,987 ^a	0,245	0,619	0,886 ^b	1			
A620 (nm)	0,008	0,023	0,060	0,020	0,057	0,020	0,026	0,264	0,005	0,233	0,069	0,062	0,760	0,006	0,452	0,899 ^b	0,805	1		
IFC (még)	0,495	0,322	0,811	0,351	0,379	0,104	0,349	0,119	0,080	0,004	0,265	0,267	7E-5	0,641	0,014	0,066	0,003	0,195	1	

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

2.2.5. Corrélations entre les paramètres et caractéristiques œnologiques des moûts et des vins

2.2.5.1. Le stade de maturité I

Le Tableau 38 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques et la composition des moûts et des vins de PM I.

Le pH et le rapport S/A.T. des moûts de PM I sont fortement corrélés avec le pH ($R^2 = 0,950$ et $R^2 = 0,948$, respectivement), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,986$ et $R^2 = 0,981$, respectivement), avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,955$ et $R^2 = 0,938$, respectivement), avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,989$ et $R^2 = 0,971$, respectivement) et avec l'IFC ($R^2 = 0,875$ et $R^2 = 0,858$, respectivement) des vins de PM I.

L'acidité totale, les concentrations en acide malique et en sucres des moûts montrent de fortes corrélations avec le pH, l'acidité totale, les concentrations en acide malique et en acide tartrique des vins de PM I.

De plus, les concentrations en azote assimilable, en azote ammoniacal et en azote alpha-aminé des moûts de PM I sont fortement corrélées avec la concentration en azote alpha-aminé, le paramètre b^* et l' A_{420} des vins de PM I. La concentration en azote alpha-aminé des moûts est également fortement corrélée avec l' A_{520} ($R^2 = 0,920$) des vins de PM I.

Tableau 38. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM I 2015

		Vins																		
Moûts		pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)
		pH	0,950 ^a	0,986 ^a	0,039	0,955 ^a	0,989 ^a	0,492	0,607	0,791	0,016	0,226	0,587	0,551	0,043	0,298	0,502	0,396	0,110	0,061
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,950 ^a	0,969 ^a	0,126	0,933 ^a	0,937 ^a	0,340	0,468	0,769	0,072	0,110	0,695	0,393	0,121	0,462	0,643	0,538	0,207	0,017	0,796	
Acide gluconique (mg/L)	0,209	0,226	0,536	0,226	0,286	0,033	0,037	0,032	0,398	0,076	0,130	0,002	0,049	0,480	0,207	0,176	0,034	0,071	0,255	
Acide malique (g/L)	0,934 ^a	0,955 ^a	0,149	0,906 ^a	0,920 ^a	0,319	0,467	0,784	0,096	0,086	0,709	0,352	0,144	0,491	0,672	0,571	0,231	0,013	0,793	
Acide tartrique (g/L)	0,238	0,269	0,251	0,161	0,226	0,055	0,267	0,524	0,402	0,040	0,381	6E-8	0,356	0,364	0,498	0,513	0,376	0,014	0,297	
Sucres (g/L)	0,886 ^b	0,907 ^a	0,175	0,889 ^b	0,909 ^a	0,240	0,375	0,618	0,098	0,074	0,610	0,343	0,096	0,492	0,583	0,481	0,160	0,029	0,767	
Azote assimilable (mg/L)	0,596	0,533	0,222	0,487	0,340	0,114	0,107	0,697	0,154	9E-05	0,951 ^a	0,046	0,687	0,635	0,938 ^a	0,934 ^a	0,828	0,271	0,195	
Azote ammoniacal (mg/L)	0,656	0,605	0,136	0,547	0,414	0,214	0,205	0,812	0,098	0,016	0,926 ^a	0,102	0,560	0,522	0,881 ^b	0,860 ^b	0,717	0,180	0,272	
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,485	0,418	0,321	0,380	0,239	0,039	0,038	0,559	0,230	0,016	0,916 ^a	0,007	0,812	0,717	0,945 ^a	0,967 ^a	0,920 ^a	0,377	0,115	
Calcium (mg/L)	0,258	0,258	0,018	0,191	0,169	0,435	0,393	0,657	0,002	0,120	0,346	0,135	0,152	0,033	0,280	0,273	0,252	0,040	0,168	
Potassium (mg/L)	0,495	0,431	0,080	0,392	0,244	0,180	0,117	0,688	0,049	0,013	0,842	0,062	0,601	0,407	0,776	0,780	0,762	0,311	0,125	
Sucres/Acidité totale	0,948 ^a	0,981 ^a	0,076	0,938 ^a	0,971 ^a	0,424	0,565	0,801	0,042	0,161	0,636	0,467	0,076	0,371	0,571	0,465	0,154	0,040	0,858 ^b	

a : R² ≥ 0,9 ; b : 0,85 ≤ R² < 0,9

2.2.5.2. Le stade de maturité II

Le Tableau 39 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques et la composition des moûts et des vins de PM II. Le pH et le rapport S/A.T. des moûts de PM II sont fortement corrélés avec le pH ($R^2 = 0,981$ et $R^2 = 0,998$, respectivement), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,984$ et $R^2 = 0,985$, respectivement), avec les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,972$ et $R^2 = 0,973$, respectivement), en acide tartrique ($R^2 = 0,915$ et $R^2 = 0,904$, respectivement) et en calcium ($R^2 = 0,984$ et $R^2 = 0,975$, respectivement) des vins de PM II. Ils sont également fortement corrélés avec la luminosité L^* ($R^2 = 0,916$ et $R^2 = 0,913$, respectivement), le paramètre a^* ($R^2 = 0,916$ et $R^2 = 0,962$, respectivement), le paramètre b^* ($R^2 = 0,887$ et $R^2 = 0,876$, respectivement), l' A_{420} ($R^2 = 0,874$ et $R^2 = 0,868$, respectivement), l' A_{520} ($R^2 = 0,924$ et $R^2 = 0,928$, respectivement), et avec l'IFC ($R^2 = 0,856$ et $R^2 = 0,928$, respectivement).

L'acidité totale et la concentration en acide malique des moûts de PM II sont fortement corrélées avec le pH ($R^2 = 0,985$ et $R^2 = 0,993$, respectivement), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,981$ et $R^2 = 0,988$, respectivement), avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,924$ et $R^2 = 0,944$, respectivement), avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,931$ et $R^2 = 0,929$, respectivement), avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,873$ et $R^2 = 0,869$, respectivement) et avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,930$ et $R^2 = 0,948$, respectivement) des vins de PM II. Ces deux paramètres sont également fortement corrélés avec le paramètre a^* ($R^2 = 0,909$ et $R^2 = 0,917$, respectivement), avec la luminosité L^* ($R^2 = 0,852$ et $R^2 = 0,879$, respectivement), avec l' A_{520} ($R^2 = 0,866$ et $R^2 = 0,890$, respectivement), et avec l'IFC ($R^2 = 0,890$ et $R^2 = 0,885$, respectivement) des vins de PM II.

La concentration en acide gluconique et en acide tartrique des moûts de PM II sont fortement corrélés avec le pH ($R^2 = 0,878$ et $R^2 = 0,923$, respectivement), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,899$ et $R^2 = 0,910$, respectivement), avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,868$ et $R^2 = 0,867$, respectivement), avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,945$ et $R^2 = 0,894$, respectivement) et avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,883$ et $R^2 = 0,840$, respectivement) déterminées pour les vins de PM II. De plus, elles sont fortement corrélées avec le paramètre a^* ($R^2 = 0,909$ et $R^2 = 0,875$, respectivement) et avec l'IFC ($R^2 = 0,980$ et $R^2 = 0,902$, respectivement) des vins de PM II.

La concentration en azote ammoniacal des moûts de PM II est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,870$), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,925$), avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,937$) et avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,884$) des vins de PM II. La concentration en azote alpha-aminé des moûts est également fortement corrélée avec le paramètre b^* et avec l'IFC ($R^2 = 0,868$ et $R^2 = 0,871$, respectivement) des vins de PM II.

La concentration en calcium des moûts de PM II est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,956$), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,993$), avec les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,919$), en acide tartrique ($R^2 = 0,974$), en calcium ($R^2 = 0,966$), ainsi qu'avec le paramètre a^* et avec l'IFC ($R^2 = 0,883$ et $R^2 = 0,871$, respectivement) des vins de PM II. La concentration en potassium des moûts est fortement corrélée avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,887$) des vins de PM II.

Tableau 39. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM II 2015

		Vins																		
Moûts		pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)
		pH	0,981 ^a	0,984 ^a	0,233	0,972 ^a	0,915 ^a	0,833	0,120	0,984 ^a	0,637	0,674	0,048	0,151	0,916 ^a	0,916 ^a	0,887 ^b	0,874 ^b	0,924 ^a	0,792
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,985 ^a	0,981 ^a	0,212	0,924 ^a	0,931 ^a	0,873 ^b	0,038	0,930 ^a	0,647	0,664	0,004	0,257	0,852 ^b	0,909 ^a	0,824	0,806	0,866 ^b	0,675	0,890 ^b	
Acide gluconique (mg/L)	0,878 ^b	0,899 ^b	0,063	0,835	0,868 ^b	0,945 ^a	0,003	0,883 ^b	0,779	0,372	0,050	0,329	0,721	0,909 ^a	0,642	0,650	0,758	0,546	0,980 ^a	
Acide malique (g/L)	0,993 ^a	0,988 ^a	0,219	0,944 ^a	0,929 ^a	0,869 ^b	0,056	0,948 ^a	0,637	0,676	0,007	0,225	0,879 ^b	0,917 ^a	0,853 ^b	0,834	0,890 ^b	0,713	0,885 ^b	
Acide tartrique (g/L)	0,923 ^a	0,910 ^a	0,130	0,838	0,867 ^b	0,894 ^b	3E-4	0,840	0,622	0,538	0,002	0,325	0,757	0,875 ^b	0,720	0,707	0,778	0,559	0,902 ^a	
Sucres (g/L)	0,399	0,378	0,026	0,334	0,354	0,638	0,346	0,340	0,354	0,040	0,002	0,331	0,266	0,486	0,214	0,228	0,299	0,142	0,623	
Azote assimilable (mg/L)	0,358	0,479	0,261	0,345	0,600	0,294	0,045	0,471	0,843	0,272	0,537	0,366	0,227	0,324	0,174	0,171	0,249	0,158	0,388	
Azote ammoniacal (mg/L)	0,870 ^b	0,925 ^a	0,449	0,833	0,937 ^a	0,634	0,210	0,884 ^b	0,709	0,804	0,082	0,233	0,750	0,734	0,731	0,700	0,753	0,620	0,689	
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,819	0,766	0,345	0,782	0,672	0,559	0,257	0,719	0,273	0,832	0,023	0,057	0,813	0,667	0,868 ^b	0,825	0,787	0,720	0,871 ^b	
Calcium (mg/L)	0,956 ^a	0,993 ^a	0,262	0,919 ^a	0,974 ^a	0,824	0,075	0,966 ^a	0,770	0,662	0,068	0,265	0,823	0,883 ^b	0,779	0,764	0,841	0,668	0,871 ^b	
Potassium (mg/L)	0,025	0,066	0,115	0,040	0,112	0,010	0,126	0,092	0,302	0,030	0,887 ^b	0,041	0,015	0,024	0,005	0,006	0,019	0,020	0,032	
Sucres/Acidité totale	0,998 ^a	0,985 ^a	0,156	0,973 ^a	0,904 ^a	0,917 ^a	0,045	0,975 ^a	0,630	0,597	0,019	0,184	0,913 ^a	0,962 ^a	0,876 ^b	0,868 ^b	0,928 ^a	0,764	0,928 ^a	

a : R² ≥ 0,9 ; b : 0,85 ≤ R² < 0,9

2.2.5.3. Le stade de maturité III

Le Tableau 40 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques et la composition des moûts et des vins de PM III.

Le pH et l'acidité totale des moûts sont fortement corrélés avec le pH ($R^2 = 0,998$, $R^2 = 0,982$, respectivement), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,965$, $R^2 = 0,998$, respectivement), avec les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,979$, $R^2 = 0,983$, respectivement) et en acide tartrique ($R^2 = 0,978$, $R^2 = 0,999$, respectivement) des vins de PM III. Ces deux paramètres sont également fortement corrélés avec les caractéristiques œnologiques des vins suivantes : la luminosité L^* ($R^2 = 0,963$, $R^2 = 0,932$, respectivement), le paramètre a^* ($R^2 = 0,972$, $R^2 = 0,914$, respectivement), le paramètre b^* ($R^2 = 0,924$, $R^2 = 0,903$, respectivement), l' A_{420} ($R^2 = 0,932$, $R^2 = 0,879$, respectivement) et l' A_{520} ($R^2 = 0,978$, $R^2 = 0,879$, respectivement). De plus, le pH des moûts est fortement corrélé avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,868$) des vins de PM III.

Les concentrations en acide malique et en acide tartrique des moûts sont fortement corrélées avec le pH ($R^2 = 0,964$ et $R^2 = 0,996$, respectivement), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,998$ et $R^2 = 0,959$, respectivement), avec les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,971$ et $R^2 = 0,973$, respectivement) et en acide tartrique ($R^2 = 0,994$ et $R^2 = 0,974$, respectivement) des vins de PM III. La concentration de ces deux acides est également fortement corrélée avec la luminosité L^* ($R^2 = 0,909$ et $R^2 = 0,961$, respectivement), le paramètre a^* ($R^2 = 0,879$ et $R^2 = 0,976$, respectivement), le paramètre b^* ($R^2 = 0,883$ et $R^2 = 0,919$, respectivement), l' A_{420} ($R^2 = 0,843$ et $R^2 = 0,931$, respectivement) et l' A_{520} ($R^2 = 0,836$ et $R^2 = 0,950$, respectivement) des vins de PM III.

La concentration en acide gluconique des moûts est fortement corrélée avec les concentrations en acide gluconique ($R^2 = 0,986$), et en sucres ($R^2 = 0,980$), le TAV ($R^2 = 0,943$) déterminés pour les vins de PM III.

De plus, les concentrations en azote ammoniacal et en azote alpha-aminé des moûts sont fortement corrélées avec le pH ($R^2 = 0,889$ et $R^2 = 0,905$, respectivement), l'acidité totale ($R^2 = 0,952$ et $R^2 = 0,917$, respectivement), les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,863$ et $R^2 = 0,940$, respectivement) et en acide tartrique ($R^2 = 0,946$ et $R^2 = 0,911$, respectivement) des vins de PM III. La concentration en azote alpha-aminé des moûts est fortement corrélée avec la luminosité L^* et le paramètre b^* ($R^2 = 0,913$ et $R^2 = 0,921$, respectivement) déterminés pour les vins de PM III. La concentration en azote ammoniacal des moûts est fortement corrélée avec l'acidité volatile et avec l'IFC ($R^2 = 0,958$ et $R^2 = 0,947$, respectivement) des vins de PM III.

Tableau 40. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM III 2015

	Vins																		
	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (még)
pH	0,998 ^a	0,965 ^a	0,263	0,979 ^a	0,978 ^a	0,792	0,622	0,868 ^b	0,431	0,376	0,068	0,276	0,963 ^a	0,972 ^a	0,924 ^a	0,932 ^a	0,978 ^a	0,665	0,789
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,982 ^a	0,998 ^a	0,372	0,983 ^a	0,999 ^a	0,839	0,596	0,754	0,529	0,505	0,124	0,214	0,932 ^a	0,914 ^a	0,903 ^a	0,879 ^b	0,879 ^b	0,538	0,805
Acide gluconique (mg/L)	0,353	0,472	0,986 ^a	0,417	0,434	0,294	0,310	0,105	0,943 ^a	0,980 ^a	0,322	0,005	0,338	0,186	0,368	0,231	0,161	0,001	0,289
Acide malique (g/L)	0,964 ^a	0,998 ^a	0,428	0,971 ^a	0,994 ^a	0,836	0,611	0,713	0,582	0,558	0,156	0,181	0,909 ^a	0,879 ^b	0,883 ^b	0,843	0,836	0,477	0,810
Acide tartrique (g/L)	0,996 ^a	0,959 ^a	0,251	0,973 ^a	0,974 ^a	0,790	0,629	0,877 ^b	0,419	0,361	0,066	0,274	0,961 ^a	0,976 ^a	0,919 ^a	0,931 ^a	0,950 ^a	0,674	0,793
Sucres (g/L)	0,506	0,374	0,003	0,505	0,413	0,279	0,044	0,569	0,010	0,018	0,180	0,795	0,576	0,588	0,587	0,710	0,706	0,866 ^b	0,156
Azote assimilable (mg/L)	0,269	0,234	0,507	0,332	0,232	0,021	0,135	0,204	0,602	0,520	0,031	0,397	0,387	0,141	0,465	0,334	0,196	0,057	0,021
Azote ammoniacal (mg/L)	0,889 ^b	0,952 ^a	0,296	0,863 ^b	0,946 ^a	0,958 ^a	0,621	0,652	0,416	0,405	0,273	0,069	0,772	0,868 ^b	0,713	0,717	0,778	0,464	0,947 ^a
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,905 ^a	0,917 ^a	0,569	0,940 ^a	0,911 ^a	0,626	0,581	0,670	0,741	0,684	0,087	0,257	0,913 ^a	0,760	0,921 ^a	0,827	0,754	0,384	0,618
Calcium (mg/L)	0,575	0,415	4E-5	0,498	0,453	0,274	0,494	0,901 ^a	0,050	0,003	0,024	0,360	0,606	0,693	0,548	0,647	0,710	0,815	0,388
Potassium (mg/L)	0,352	0,499	0,177	0,348	0,475	0,800	0,184	0,110	0,164	0,273	0,573	0,028	0,221	0,346	0,187	0,193	0,255	0,088	0,653
Sucres/Acidité totale	0,992 ^a	0,983 ^a	0,293	0,975 ^a	0,991 ^a	0,834	0,633	0,826	0,456	0,410	0,103	0,226	0,941 ^a	0,959 ^a	0,899 ^b	0,900 ^b	0,920 ^a	0,615	0,829

a : R² ≥ 0,9 ; b : 0,85 ≤ R² < 0,9

2.2.5.4. Le stade de maturité IV

Le Tableau 41 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques et la composition des moûts et des vins de PM IV.

Le pH et l'acidité totale des moûts de PM IV sont fortement corrélés avec le pH ($R^2 = 0,912$ et $R^2 = 0,904$, respectivement), l'acidité totale ($R^2 = 0,985$ et $R^2 = 0,988$, respectivement), les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,990$ et $R^2 = 0,987$, respectivement), en acide tartrique ($R^2 = 0,984$ et $R^2 = 0,994$, respectivement), et en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,886$ et $R^2 = 0,896$, respectivement) et avec la conductivité ($R^2 = 0,933$ et $R^2 = 0,946$, respectivement) des vins de PM IV.

Les concentrations en acide malique et en acide tartrique des moûts sont fortement corrélées avec l'acidité totale ($R^2 = 0,972$ et $R^2 = 0,943$, respectivement), les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,973$ et $R^2 = 0,881$, respectivement), et en acide tartrique ($R^2 = 0,994$ et $R^2 = 0,938$, respectivement) et avec la conductivité ($R^2 = 0,971$ et $R^2 = 0,876$, respectivement) des vins de PM IV. De plus, la concentration en acide malique des moûts est fortement corrélée avec la concentration en azote alpha-aminé ($R^2 = 0,943$) des vins de PM IV.

La concentration en acide tartrique des moûts est fortement corrélée avec le TAV ($R^2 = 0,875$) des vins de PM IV.

La concentration en sucres des moûts est fortement corrélée avec l'acidité totale et avec le TAV ($R^2 = 0,864$ et $R^2 = 0,992$, respectivement) des vins de PM IV.

La concentration en calcium des moûts est fortement corrélée avec la luminosité L^* des vins ($R^2 = 0,871$).

La concentration en azote ammoniacal des moûts est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,882$), avec l'acidité totale ($R^2 = 0,947$), avec les concentrations en acide malique ($R^2 = 0,975$), et en acide tartrique ($R^2 = 0,935$), avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,868$), avec la concentration en azote alpha-aminé et avec la conductivité ($R^2 = 0,861$ et $R^2 = 0,887$, respectivement) des vins de PM IV. La concentration en azote alpha-aminé des moûts est fortement corrélée avec le pH et avec le TAV ($R^2 = 0,921$ et $R^2 = 0,922$, respectivement) des vins de PM IV.

Tableau 41. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins PM IV 2015

	Vins																		
	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/l. H ₂ SO ₄)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	TAV (% vol)	Glucose + fructose (g/L)	Azote alpha-aminé (mg/L)	Conductivité (µS/cm)	L*	a*	b*	A420 (nm)	A520 (nm)	A620 (nm)	IFC (méq)
pH	0,912 ^a	0,985 ^a	0,130	0,990 ^a	0,984 ^a	0,848	0,001	0,581	0,746	0,531	0,886 ^b	0,933 ^a	0,011	0,137	0,284	0,006	9E-5	0,024	0,423
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,904 ^a	0,988 ^a	0,124	0,987 ^a	0,994 ^a	0,829	0,003	0,530	0,748	0,500	0,896 ^b	0,946 ^a	0,002	0,115	0,238	0,001	0,002	0,041	0,424
Acide gluconique (mg/L)	0,002	0,062	0,632	0,038	0,037	0,203	0,777	0,042	0,276	0,342	0,057	0,080	0,006	0,601	0,038	0,054	0,009	0,080	0,416
Acide malique (g/L)	0,838	0,972 ^a	0,099	0,973 ^a	0,994 ^a	0,783	0,014	0,422	0,698	0,420	0,934 ^a	0,971 ^a	0,003	0,082	0,175	0,004	0,022	0,089	0,415
Acide tartrique (g/L)	0,885 ^b	0,943 ^a	0,077	0,881 ^b	0,938 ^a	0,774	0,049	0,419	0,875 ^b	0,506	0,768	0,876 ^b	0,011	0,022	0,111	0,007	0,034	0,058	0,299
Sucres (g/L)	0,795	0,864 ^b	0,011	0,784	0,814	0,846	0,110	0,523	0,992 ^a	0,719	0,645	0,770	2E-4	9E-5	0,184	0,010	0,003	4E-4	0,113
Azote assimilable (mg/L)	0,275	0,422	0,057	0,536	0,447	0,405	0,049	0,331	0,107	0,164	0,624	0,500	0,112	0,305	0,440	0,064	0,054	0,005	0,304
Azote ammoniacal (mg/L)	0,882 ^b	0,947 ^a	0,132	0,975 ^a	0,935 ^a	0,868 ^b	0,002	0,686	0,696	0,580	0,861 ^b	0,887 ^b	0,055	0,195	0,411	0,040	0,020	0,002	0,410
Azote alpha-aminé (mg/L)	0,921 ^a	0,832	0,118	0,754	0,789	0,742	0,010	0,575	0,922 ^a	0,631	0,543	0,675	0,007	0,045	0,174	0,009	0,001	2E-4	0,253
Calcium (mg/L)	0,169	0,059	0,193	0,080	0,037	0,135	0,439	0,621	0,055	0,268	0,011	0,012	0,871 ^b	0,524	0,652	0,658	0,848	0,511	0,095
Potassium (mg/L)	0,410	0,281	0,015	0,190	0,235	0,279	0,077	0,226	0,642	0,402	0,071	0,161	0,002	0,024	0,010	0,002	0,002	0,018	0,009
Sucres/Acidité totale	0,918 ^a	0,934 ^a	0,234	0,945 ^a	0,956 ^a	0,723	0,006	0,497	0,638	0,393	0,836	0,877 ^b	0,003	0,212	0,210	2E-4	0,001	0,060	0,575

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

2.2.6. Discussion sur les vins

Caractéristiques œnologiques des vins

Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de base des 4 stades de maturité montrent les mêmes tendances d'évolution que celles des moûts au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015 ; une augmentation du pH et de la concentration en calcium, et une diminution de l'acidité totale et des concentrations en acide malique, en acide tartrique et en azote alpha-aminé. Néanmoins, il est important de noter que la concentration en potassium des vins de base est plus faible que celle des moûts correspondants comme cela a été observé dans les vins de Chardonnay 2015.

Selon la maturité des raisins, la concentration en potassium des vins des 4 stades de maturité est stable, tandis que la concentration en azote alpha-aminé et le pH augmentent ; la concentration en acide malique, en acide tartrique et en calcium diminuent dans les vins de PM I à PM IV.

Caractéristiques chromatiques des vins

Dans les vins de Pinot meunier 2015, les paramètres mesurés varient comme dans les vins de base de Chardonnay 2015 : tandis que la luminosité L^* diminue un peu, les autres paramètres caractérisant la couleur (a^* , b^* , A_{420} , A_{520} , A_{620}) augmentent dans les vins de S1 à S5.

Nos résultats montrent qu'au cours de la maturation des raisins Pinot meunier 2015, le Chroma (Figure 51) et l'IC (Figure 52) sont plus élevés dans les vins de PM I (excepté les vins S2 PM IV et S5 PM II) que ceux des autres stades de maturité comme cela a également été observé dans les vins de Chardonnay 2015.

La concentration des anthocyanes, qui sont les pigments rouges responsables de la coloration des raisins noirs (comme le Pinot meunier), augmentent régulièrement tout au long de la maturation des baies (Fernandez-Lopez *et al.*, 1992; Blouin, 1998; Ryan et Revilla, 2003; Perez-Magarino et Gonzalez-San Jose, 2004; Canals *et al.*, 2005). Elles sont localisées dans les vacuoles des cellules de la pellicule (Amrani Joutei *et al.*, 1994). Cela pourrait expliquer la valeur faible du paramètre a^* et de l'IFC pour les vins de PM I par rapport aux autres vins de Pinot meunier 2015 étudiés. Cependant, nous trouvons que les valeurs des paramètres $L^*a^*b^*$ des vins de PM I sont plus élevées que dans les vins de PM IV.

Les valeurs des paramètres $L^*a^*b^*$ présentent de plus de fortes corrélations pour les vins de PM II et PM III par rapport aux vins de PM I et PM IV. Il est important de noter que les vins de PM II et PM III ont été élaborés avec des raisins prélevés peu de temps avant la

maturité technologique. Cela suggère que ces paramètres de la couleur peuvent utiliser comme des marqueurs de la maturité des raisins Pinot meunier 2015 et également de la qualité (indirectement) des vins de base de Champagne basé sur les caractéristiques œnologique et chromatiques des moûts et des vins.

La conductivité mesure la teneur ionique dans une solution. Sa teneur dans les vins issus des moûts des 4 stades de maturité diminue dans les vins de S1 à S5. Les coefficients de corrélation montrent que la conductivité des vins de PM IV est corrélée avec le pH ($R^2 = 0,933$), l'acidité totale ($R^2 = 0,946$) et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,971$) des moûts de PM IV.

Teneurs en protéines

Pour un stade de maturité donné et pour tous les stades de maturité des raisins Pinot meunier 2015, il est possible de visualiser des changements significatifs dans les profils protéiques des vins. 11 bandes protéiques sont présentes dans les vins des 4 stades de maturité, au cours du pressurage. Cependant, la teneur de ces protéines est différente entre les vins de PM I à PM IV : l'intensité de la plupart des bandes protéiques (protéines A, C, D, E, F, G, I) augmente, tandis que celle des protéines B, H, K diminue dans les vins de PM I à PM IV. Au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015, on observe que l'intensité de la plupart des protéines des 4 stades de maturité diminue, alors que celle de la protéine A augmente dans les vins de S1 à S5.

L'augmentation de l'intensité des bandes protéiques peut être due à la synthèse 1) de PR protéines (Famiani *et al.*, 2000; Negri *et al.*, 2008; Jégou *et al.*, 2014; Fraige *et al.*, 2015) et 2) de protéines impliquées dans le métabolisme des sucres et de la glycolyse après la stade de véraison (Negri *et al.*, 2008; Jégou *et al.*, 2014; Kambiranda *et al.*, 2014). Cependant, certaines études montrent une diminution de la quantité de ces protéines durant la maturation des raisins (Giribaldi *et al.*, 2007; Fortes *et al.*, 2011; Martínez-Esteso *et al.*, 2011).

L'intensité de la protéine B diminue dans les vins de PM I à PM IV, et diminue également dans les vins de S1 à S5. Cette protéine correspondrait à l'invertase vacuolaire de raisin avec une masse moléculaire de 61-62 kDa, comme cela a été observé dans les vins de Chardonnay 2015, et dans de précédentes études (Davies et Robinson, 1996; Marchal *et al.*, 1996; Dambrouck *et al.*, 2003; Dambrouck *et al.*, 2005; Marchal *et al.*, 2006; Jégou *et al.*, 2009; Jégou *et al.*, 2014).

La teneur en protéines totales diminue au cours du pressurage, quel que soit le stade de maturité des raisins, et quel que soit la méthode de dosage (SDS-PAGE et méthode de Bradford). Cependant, la méthode SDS-PAGE montre que la teneur en protéines totales est relativement stable au cours de la maturation des raisins. Ce résultat n'est pas confirmé lorsque la concentration en protéines des mêmes vins est déterminée par la méthode de Bradford modifiée ; en effet, la concentration en protéines totales augmente globalement dans les vins de PM I à PM IV, comme cela a été observé dans de précédentes études (Ferenczi, 1966; Burroughs, 1971; Luis, 1985; Deytieux *et al.*, 2007; Giribaldi *et al.*, 2007; Negri *et al.*, 2008; Martínez-Esteso *et al.*, 2011; Martínez-Esteso *et al.*, 2013; Kambiranda *et al.*, 2014).

3. Conclusions

Différents paramètres œnologiques ont été déterminés pour le cépage Chardonnay (millésime 2015) afin d'évaluer l'effet de la maturité des raisins et l'impact du fractionnement au pressurage sur la qualité des jus de raisins et des vins de base correspondants. Les résultats obtenus (Tableau 15 et Tableau 19) montrent que les concentrations en sucres et en azote assimilable, le pH augmentent, tandis que l'acidité totale, les concentrations en acide malique et en potassium diminuent selon la maturité des raisins Chardonnay 2015.

D'autre part, les concentrations en acide tartrique et en calcium sont stables tandis que celle de l'acide gluconique diminue, au cours de la maturation des raisins. Le choix des grappes, visuellement les plus saines possibles, peut aussi expliquer en partie cette diminution de la teneur en acide gluconique.

Le rapport de la concentration en sucres sur l'acidité totale (S/A.T.), ou l'indice de maturité, est un indicateur qui permet d'évaluer la « qualité » des raisins et de déterminer la date de vendange. Cet indice augmente au cours de la maturation des raisins (Figure 39 et Tableau 42). Lors du pressurage, on observe clairement que les composés de la zone externe de la baie sont moins extraits que ceux de la zone intermédiaire, en raison d'un retard de maturité des cellules de cette zone périphérique. Cela se traduit par une diminution marquée des teneurs en acide tartrique et malique, alors que la teneur en sucres ne varie que fort peu entre la serre 1 et la serre 5 (Tableau 15).

Les polyphénols et le potassium sont majoritaires localisés dans la zone de la pulpe proche de la pellicule. Leur concentration augmente au cours de la maturation des baies de raisin et également au cours du pressurage des grappes de raisin. On observe ainsi que l'IFC du vin de CHY III est plus élevé que celui du vin de CHY I, au cours du pressurage.

Les caractéristiques chromatiques (Tableau 20 et Tableau 42) des vins de Chardonnay 2015 sont également corrélées avec la maturité de la baie. Par exemple, les paramètres b^* , A_{420} , A_{520} et

A₆₂₀ sont plus élevés dans les vins de CHY I par rapport aux vins de CHY III. Cela correspondait à une meilleure maturité des cellules des baies de raisin qui permet une libération plus importante de ces composés (polyphénols) en raison d'une « fragilisation » des parois pecto-cellulosiques.

Pour les moûts de Chardonnay 2015, l'impact de la maturité et du fractionnement des moûts lors du pressurage sur la composition des moûts de Pinot meunier 2015 (Tableau 15 et Tableau 43). Le pH, les concentrations en sucres et en azote augmentent au cours de la maturation des raisins alors que l'acidité totale diminue.

Nous avons observé que les moûts de PM IV, issu des raisins vendangés quelques jours après la vendange de la parcelle (et pour lesquels on attendait une nouvelle augmentation de S/A.T.), n'ont pas « gagné » en maturité. Ce point de maturité, qui correspond bien à une « maturité aux champs » doit être écarté en raison du choix orienté des grappes, imposé par des pluies survenues peu avant.

Dans les vins de Pinot meunier 2015, les changements observés pour les paramètres œnologiques courants suivent les mêmes tendances que ceux observés dans les vins de base de Chardonnay 2015.

La composition et la concentration en protéines des vins issus de différents stades de maturité des raisins Chardonnay et Pinot meunier 2015 ont été analysées par la technique SDS-PAGE. Douze bandes protéiques majeures ont été révélées dans les vins de base de Chardonnay et 11 bandes protéiques majeures dans les vins de base de Pinot meunier. La méthode SDS-PAGE et le dosage colorimétrique de Bradford ont permis de déterminer les concentrations des protéines des différents stades de maturités des raisins Chardonnay et Pinot meunier. Nos résultats montrent que de la plupart des protéines et des protéines totales augmentent au cours de la maturation des raisins mais diminuent durant le pressurage.

La diminution, parfois fort marquée, de diverses protéines des vins de base (les protéines C, D, E, G, H, I, K, L dans les vins de base de Chardonnay ; les protéines B, C, D, E, F, G, H, J, K dans les vins de base de Pinot meunier) issus de la fin du pressurage s'explique plus par les différences de maturité au sein de la baie que par la distribution de ces protéines dans les baies de raisin à proprement parler. En d'autres termes, les protéines sont très probablement les mêmes dans toutes les cellules de la baie de raisin, mais les cellules de la pulpe à proximité de la pellicule présentent un retard de maturité entraînant une libération plus faible des protéines au regard des protéines libérées par les cellules de la zone intermédiaire. Cela entraîne des différences de teneur en protéines globales des moûts extraits au cours du pressurage qui peuvent atteindre plus de 30%.

L'augmentation de l'intensité en protéines (en %) de la plupart des protéines des vins, selon la maturité des raisins Chardonnay et de Pinot meunier, pourrait être expliquée par la distribution de ces protéines dans la baie des raisins (Negri *et al.*, 2008; Kambiranda *et al.*, 2014) à la fin du développement des raisins Chardonnay 2015 ou par la synthèse de PR protéines (Famiani *et al.*,

2000; Negri *et al.*, 2008; Fraige *et al.*, 2015) et de protéines liées au métabolisme des sucres et la glycolyse, après la stade de véraison (Negri *et al.*, 2008; Kambiranda *et al.*, 2014).

L'étude de l'influence de la maturité des raisins Chardonnay et Pinot meunier 2015 sur la composition des moûts et des vins au cours du pressurage a été réalisée dans le cadre d'un projet de recherches, en mettant en évidence l'importance des itinéraires techniques. Sachant que les stades de maturité des raisins sont associés à la qualité des moûts extraits et également aux nombreuses caractéristiques œnologiques et chromatiques des vins de base de Champagne, les vignerons prennent en compte de plus en plus souvent la « maturité technique » comme critère de qualité de la vendange. Le rapport de la concentration en sucres sur l'acidité totale (S/A.T.), ou l'indice de maturité, est un indicateur qui permet d'évaluer la qualité des raisins et de déterminer la date de vendange. Cet indice augmente au cours de la maturité des raisins des deux cépages étudiés.

Le suivi du paramètre « Maturité des baies » est des plus importants pour une région vitivinicole comme la Champagne. En effet, on observe, à l'ouverture des vendanges, des jus qui vont de 8 à 11,5 degrés d'alcool potentiel. Cette forte variation de la maturité d'un millésime à l'autre, et d'un cru à l'autre pour un même millésime, est bien connue dans les régions vinicoles septentrionales. Ainsi, la notion même de maturité revêt un caractère en Champagne bien différent de ce que connaissent les zones de production méridionales ou moins septentrionales. Il est certain que le changement climatique que nous connaissons depuis quelques années nous apporte des millésimes nouveaux en termes de composition de la matière première (2015 est un excellent exemple). Néanmoins, les écarts de maturité entre deux années successives restent très marqués, avec des vendanges qui peuvent commencer le 22 août comme le 7 octobre, soit 7 semaines plus tard (c'est un écart considérable au niveau du cycle de la vigne et de la période de véraison notamment). Cette étude trouve de ce fait tout à fait sa place dans le contexte champenois (alors que d'autres régions souffrent d'un excès de maturité et travaillent à la gestion de cette maturité excessive de la pulpe).

D'après les résultats obtenus, la composition en protéines des vins varie au cours de la maturation des raisins Chardonnay et Pinot meunier 2015. Les masses moléculaires de ces protéines ont été déterminées, et leur identification par LC-SM/SM permettra de préciser la nature de ces protéines afin de mieux comprendre les évolutions observées au cours de la maturation des raisins, et de corrélérer la présence de ces protéines avec notamment les propriétés moussantes des vins de Champagne.

De plus, la poursuite de l'étude de l'impact de la maturité des baies de raisin pour plusieurs millésimes permettait de mieux comprendre les modifications observées et d'étudier l'impact d'autres facteurs tels que les conditions climatiques, le terroir et les pratiques culturelles sur la qualité des moûts et des vins de Champagne.

Tableau 42. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins des 3 stades de maturité au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2015

	CHY I		CHY II		CHY III	
	Moûts	Vins	Moûts	Vins	Moûts	Vins
pH	↗	↗	↗	↗	↗	↗
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acide malique (g/L)	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acide tartrique (g/L)	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acide gluconique (mg/L)	↘	stable	↗	↗	↗	stable
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	-	↗	-	↗	-	↗
Sucres (g/L)	stable	-	stable	-	stable	-
Azote assimilable (mg/L)	↘	-	↗	-	↘	-
Azote ammoniacal (mg/L)	stable	-	↗	-	↘	-
Azote alpha-aminé (mg/L)	↘	↘	stable	↘	stable	↘
Calcium (mg/L)	stable	stable	stable	stable	stable	stable
Potassium (mg/L)	stable	stable	stable	stable	stable	stable
Sucres/Acidité totale	↗	-	↗	-	↗	-
Conductivité (µS/cm)	-	stable	-	stable	-	stable
Protéines totales (Bradford, mg/L éq ASB)	-	↘	-	↘	-	↘
Indice de Folin-Ciocalteu	-	stable	-	stable	-	stable
L*	-	↘	-	stable	-	stable
a*	-	↗	-	stable	-	stable
b*	-	↗	-	↗	-	↗
A ₄₂₀	-	↗	-	↗	-	↗
A ₅₂₀	-	↗	-	↗	-	↗
A ₆₂₀	-	↗	-	↗	-	↗

Tableau 43. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins des 4 stades de maturité au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2015

	PM I		PM II		PM III		PM IV	
	Moûts	Vins	Moûts	Vins	Moûts	Vins	Moûts	Vins
pH	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acide malique (g/L)	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acide tartrique (g/L)	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acide gluconique (mg/L)	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘	↘
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	-	↗	-	↘	-	↘	-	↘
Sucres (g/L)	stable	-	stable	-	stable	-	stable	-
Azote assimilable (mg/L)	↘	-	stable	-	stable	-	stable	-
Azote ammoniacal (mg/L)	↘	-	↘	-	↘	-	↘	-
Azote alpha-aminé (mg/L)	↘	↘	↗	stable	↗	stable	↗	↘
Calcium (mg/L)	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗	↗
Potassium (mg/L)	↗	stable	↗	stable	↗	stable	↗	stable
Sucres/Acidité totale	↗	-	↗	-	↗	-	↗	-
Conductivité (µS/cm)	-	stable	-	stable	-	stable	-	stable
Protéines totales (Bradford, mg/L éq ASB)	-	↘	-	↘	-	↘	-	↘
Indice de Folin-Ciocalteu	-	↗	-	↗	-	↗	-	↗
L*	-	↘	-	↘	-	↘	-	↘
a*	-	↗	-	↗	-	↗	-	↘
b*	-	↗	-	↗	-	↗	-	↗
A420	-	↗	-	↗	-	↗	-	-
A520	-	↗	-	↗	-	↗	-	-
A620	-	↗	-	↗	-	↗	-	-

Tableau 44. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins suivant la maturité des raisins Chardonnay 2015

	Moûts	Vins
pH	↗	↗
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	↘	↘
Acide malique (g/L)	↘	↘
Acide tartrique (g/L)	stable	stable
Acide gluconique (mg/L)	↘	↘
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	-	↗
Sucres (g/L)	↗	-
Azote assimilable (mg/L)	↗	-
Azote ammoniacal (mg/L)	↗	-
Azote alpha-aminé (mg/L)	↗	↗
Calcium (mg/L)	↘	↘
Potassium (mg/L)	stable	↗
Sucres/Acidité totale	↗	-
Conductivité (μS/cm)	-	stable
Protéines totales (Bradford, mg/L éq ASB)	-	↗
Indice de Folin-Ciocalteu	-	stable
L*	-	stable
a*	stable	stable
b*	stable	stable
A420	stable	stable
A520	stable	stable
A620	stable	stable

Tableau 45. Evolution des caractéristiques œnologiques et chromatiques des moûts et des vins suivant la maturité des raisins Pinot meunier 2015

	Moûts	Vins
pH	↗	↗
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	↘	↘
Acide malique (g/L)	↘	↘
Acide tartrique (g/L)	↘	↘
Acide gluconique (mg/L)	↘	↘
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	-	↘
Sucres (g/L)	↗	-
Azote assimilable (mg/L)	↗	-
Azote ammoniacal (mg/L)	↗	-
Azote alpha-aminé (mg/L)	↗	↗
Calcium (mg/L)	↘	↘
Potassium (mg/L)	↗	stable
Sucres/Acidité totale	↗	-
Conductivité (μS/cm)	-	stable
Protéines totales (Bradford, mg/L éq ASB)	-	↗
Indice de Folin-Ciocalteu	-	↗
L*	-	stable
a*	-	↗
b*	-	↘
A420	-	↘
A520	-	↗
A620	-	-

CHAPITRE V

**IMPACT D'UNE CONTAMINATION DU RAISIN PAR
BOTRYTIS CINEREA ET DU FRACTIONNEMENT
AU PRESSURAGE SUR LA COMPOSITION
DES MOÛTS ET DES VINS**

Ce cinquième chapitre a pour objectif d'étudier l'impact d'une contamination du raisin par *Botrytis cinerea* et du fractionnement au pressurage sur la composition de moûts et de vins de base de Chardonnay. L'essai a été réalisé à partir des raisins sains et botrytisés du millésime 2014 dont le pressurage a été effectué sur un pressoir à l'échelle du laboratoire. L'étude montre des changements de composition des moûts et des vins tout au long du pressurage des raisins sains ou botrytisés, et des corrélations entre les différents paramètres œnologiques des moûts et des vins. L'étude de la composition en protéines et leur caractérisation, ainsi que l'étude des polysaccharides (PS) et des oligosaccharides (OS) des vins issus du fractionnement au pressurage de raisins sains et botrytisés ont également été réalisées.

1. Les moûts sains et botrytisés de la vendange 2014

1.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des moûts

La composition des moûts sains et botrytisés est présentée dans les Figure 57, Figure 58, Figure 59 et le Tableau 46.

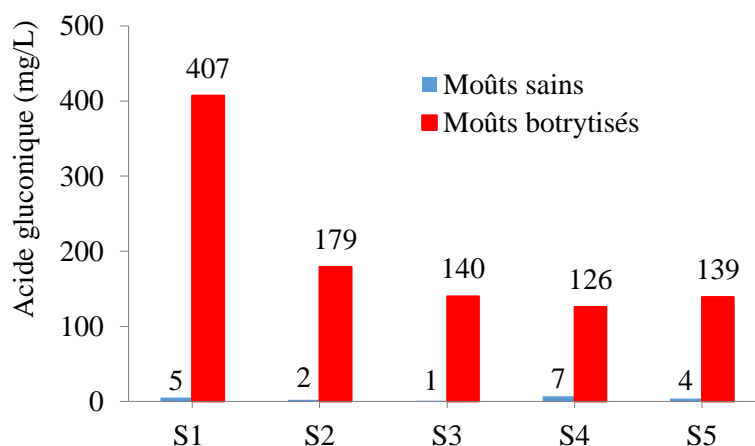


Figure 57. Comparaison de la concentration en acide gluconique des moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014 au cours du pressurage. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

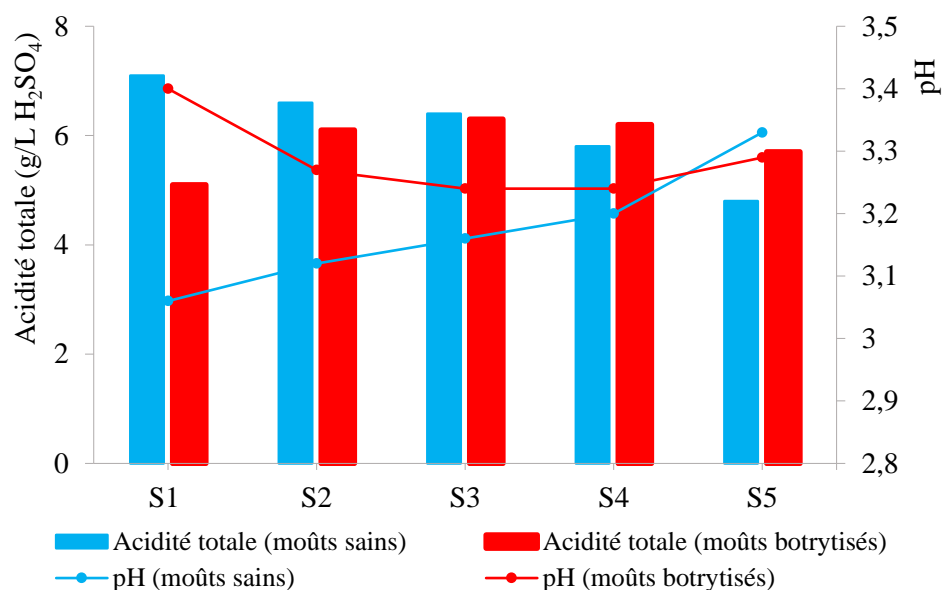


Figure 58. Comparaison du pH et de l'acidité totale des moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014 au cours du pressurage. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

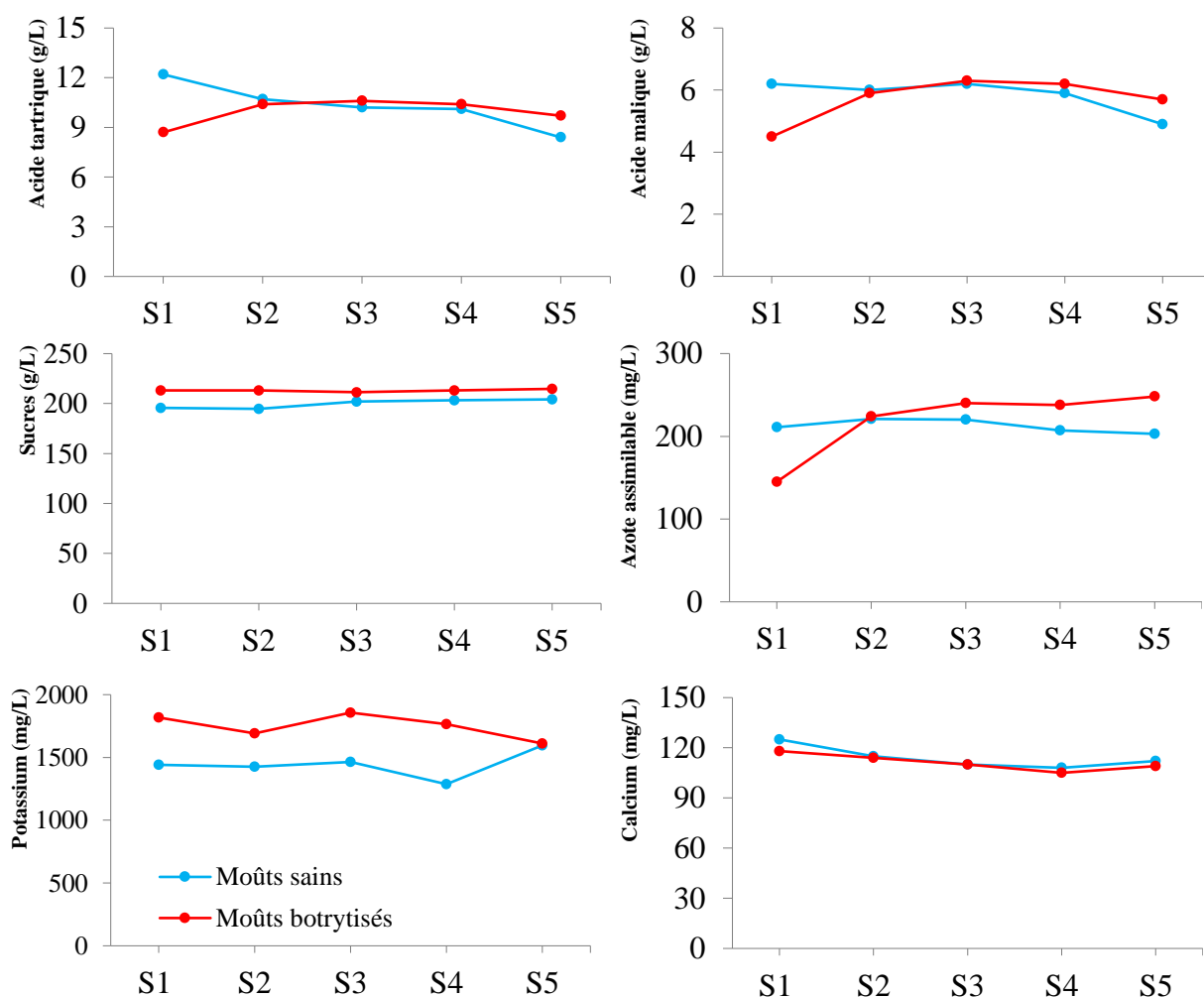


Figure 59. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014 au cours du pressurage. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Tableau 46. Composition des moûts durant le pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

		pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)
S1	Moûts sains	3,06	7,1	5	6,2	12,2	195,7	211	125	1440
S2		3,12	6,6	2	6,0	10,7	194,7	221	115	1425
S3		3,16	6,4	1	6,2	10,2	202,1	220	110	1464
S4		3,20	5,8	7	5,9	10,1	203,2	207	108	1287
S5		3,33	4,8	4	4,9	8,4	204,2	203	112	1596
S1	Moûts botrytisés	3,40	5,1	407	4,5	8,7	213,1	145	118	1818
S2		3,27	6,1	179	5,9	10,4	213,1	224	114	1692
S3		3,24	6,3	140	6,3	10,6	211,4	240	110	1857
S4		3,24	6,2	126	6,2	10,4	213,1	238	105	1764
S5		3,29	5,7	139	5,7	9,7	214,7	248	109	1611

L'acide gluconique est détecté dans tous les moûts durant le pressurage des raisins sains et botrytisés (Figure 57). Cependant, sa concentration est faible dans les moûts sains (de 1 à 7 mg/L) par rapport aux moûts botrytisés (de 126 à 407 mg/L). La concentration en acide gluconique diminue durant le pressurage des raisins botrytisés ; celle-ci est la plus élevée dans le moût S1B (407 mg/L) et elle diminue ensuite rapidement dans le moût S2B (179 mg/L). La différence de concentrations en acide gluconique est particulièrement marquée pour le moût S1 (S1S : 5 mg/L et S1B : 407 mg/L).

Le pH des moûts botrytisés est plus élevé que celui des moûts sains au début du pressurage des raisins, ensuite cette différence diminue au cours du pressurage. Une augmentation du pH des moûts sains est observée au cours du pressurage : de 3,06 pour S1S à 3,33 pour S5S (Figure 58). Contrairement au pH, l'acidité totale est la plus élevée dans le moût S1S (7,1 g/L H₂SO₄) et diminue ensuite dans les moûts sains du début jusqu'à la fin du pressurage. L'acidité totale des moûts botrytisés est quant à elle la plus faible dans le moût S1B (5,1 g/L H₂SO₄), puis elle augmente jusqu'au moût S3B (6,3 g/L H₂SO₄) et diminue de nouveau dans les moûts S4B et S5B (respectivement 6,2 et 5,7 g/L H₂SO₄).

L'évolution des concentrations en acide malique et en acide tartrique est la même que celle de l'acidité totale au cours du pressurage des raisins. Par exemple, la concentration en acide tartrique dans les moûts sains est la plus élevée dans le moût au début du pressurage S1S (12,2 g/L) et la plus faible dans le moût à la fin du pressurage S5S (8,4 g/L), tandis qu'elle augmente de 8,7 à 10,6 g/L du moût S1B au moût S3B et diminue ensuite du moût S3B au moût S5B (9,7 g/L).

D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances pour la plupart des paramètres présentés dans la Figure 59 pour les moûts sains et botrytisés.

La concentration en sucres augmente au cours du pressurage du moût S1S (195,7 g/L) au moût S5S (204,2 g/L), tandis que cette concentration est stable au cours du pressurage des raisins botrytisés (de 211,4 à 214,7 g/L). Au cours du pressurage, la concentration en sucres des moûts botrytisés est légèrement plus élevée que celle des moûts sains.

Les concentrations en potassium et en calcium sont relativement stables au cours du pressurage des raisins sains ; leur teneur est respectivement comprise entre 1287 et 1596 mg/L et entre 108 et 125 mg/L. Dans les moûts botrytisés, la concentration en calcium est stable (de 105 à 118 mg/L). La concentration en potassium diminue de 7% du moût S1B (1818 mg/L) au moût S2B (1692 mg/L), puis augmente dans le moût S3B (1857 mg/L), et enfin elle diminue du moût S3B jusqu'au moût S5B (1611 mg/L). Alors qu'il n'y a pas de différence de concentration en calcium entre les moûts sains et les moûts botrytisés, au cours du pressurage, la concentration en potassium des moûts sains est plus faible que celle des moûts botrytisés.

La concentration en azote assimilable est stable, de 203 à 221 mg/L dans les moûts sains, tandis que celle-ci augmente de 71% du moût S1B (145 mg/L) au moût S5B (248 mg/L). Au début du pressurage, la concentration en azote assimilable du moût S1B est plus faible que celle du moût S1S ; à partir du moût S2, cette évolution s'inverse et la concentration en azote assimilable est plus élevée dans les moûts botrytisés par rapport aux moûts sains.

1.2. Corrélations entre les caractéristiques des moûts

1.2.1. Les moûts sains

Les coefficients de corrélation (R^2) entre les différents paramètres œnologiques des raisins sains Chardonnay 2014 sont présentés dans le Tableau 47.

Tableau 47. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)
pH	1								
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,989 ^a	1							
Acide gluconique (mg/L)	0,014	0,044	1						
Acide malique (g/L)	0,828	0,842	0,028	1					
Acide tartrique (g/L)	0,949 ^a	0,914 ^a	0,004	0,710	1				
Sucres (g/L)	0,680	0,661	0,051	0,315	0,624	1			
Azote assimilable (mg/L)	0,394	0,463	0,579	0,499	0,193	0,326	1		
Calcium (mg/L)	0,404	0,390	0,002	0,085	0,539	0,559	0,004	1	
Potassium (mg/L)	0,218	0,165	0,225	0,394	0,209	0,023	0,028	0,028	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

D'après les résultats obtenus, excepté la relation évidente entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,989$), nous observons une forte corrélation entre la concentration en acide tartrique et le pH ainsi que l'acidité totale (respectivement $R^2 = 0,949$ et $R^2 = 0,914$).

1.2.2. Les moûts botrytisés

Les coefficients de corrélation (R^2) entre les différents paramètres œnologiques des raisins botrytisés Chardonnay 2014 sont présentés dans le Tableau 48. Le pH est fortement corrélé avec la concentration des différents acides et avec l'acidité totale. Les concentrations en acide gluconique et en azote assimilable sont également fortement corrélées ($R^2 = 0,984$). De plus, la concentration en azote assimilable est fortement corrélée avec le pH et avec la concentration en acide malique (respectivement $R^2 = 0,840$ et $R^2 = 0,839$) dans les moûts, au cours du pressurage.

Tableau 48. Corrélations entre les caractéristiques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)
pH	1								
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,956 ^a	1							
Acide gluconique (mg/L)	0,910 ^a	0,767	1						
Acide malique (g/L)	0,997 ^a	0,959 ^a	0,905 ^a	1					
Acide tartrique (g/L)	0,946 ^a	0,994 ^a	0,769	0,949 ^a	1				
Sucres (g/L)	0,076	0,190	6E-05	0,091	0,169	1			
Azote assimilable (mg/L)	0,840	0,679	0,984 ^a	0,839	0,687	0,003	1		
Calcium (mg/L)	0,653	0,481	0,732	0,632	0,435	0,004	0,686	1	
Potassium (mg/L)	0,010	0,002	0,122	0,006	2E-6	0,771	0,168	0,040	1

a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

1.3. Cinétiques fermentaires des moûts

La durée des fermentations alcooliques des moûts est présentée dans la Figure 60.

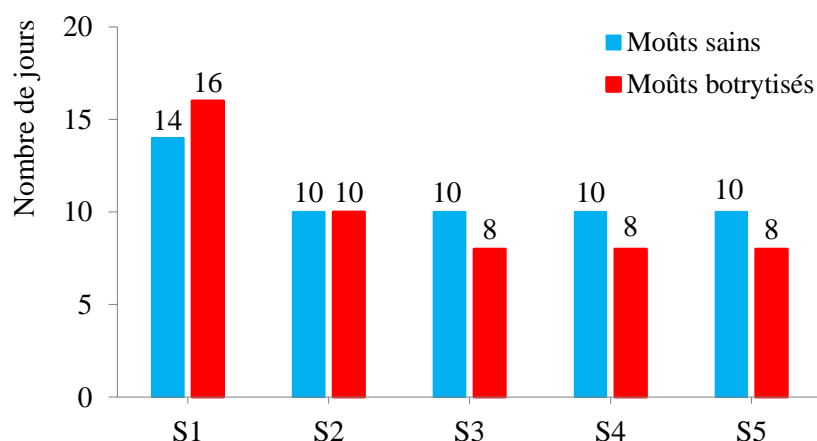


Figure 60. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Les résultats indiquent que la durée des fermentations alcooliques des moûts de S2S à S5S (10 jours) est plus courte que celle du moût S1S (14 jours), tandis que la durée des fermentations alcooliques des moûts botrytisés est : 16 jours pour le moût S1B, 10 jours pour le moût S2B et 8 jours pour les moûts S3B, S4B et S5B.

Les résultats montrent que la durée des fermentations alcooliques du moût S1S en début de pressurage est inférieure de 2 jours par rapport à celle du moût botrytisé correspondant (S1B) (Figure 60). La tendance inverse est observée pour les moûts sains S3S, S4S et S5S (10 jours) par rapport aux moûts botrytisés S3B, S4B et S5B (8 jours).

1.4. Discussion sur les moûts

L'effet de *B. cinerea* sur la composition des moûts au cours du pressurage a été évalué en mesurant divers paramètres œnologiques. Les modifications pouvant se produire lors d'une contamination dépendent largement de la nature et du degré de pourriture (Ribéreau-Gayon, 1988). Au cours de l'infection par *Botrytis cinerea*, des changements importants ont lieu dans la composition des raisins et des moûts extraits au cours du pressurage.

Un pH plus élevé et une acidité totale plus faible sont observés dans les moûts botrytisés par rapport aux moûts sains Chardonnay 2014. Cette différence est plus importante dans le moût S1 au début du pressurage (+ 0,34 unité en pH ; - 2,0 g/L H₂SO₄ en acidité). Le développement de *Botrytis cinerea* sur le raisin conduit habituellement à une dégradation des acides organiques principaux (acide tartrique et acide malique) dans les raisins (Ribéreau-Gayon, 1988; Donèche, 1993; Blouin et Gimberteau, 2000). Ainsi, une concentration faible de ces acides et une faible acidité totale dans les moûts botrytisés, ainsi qu'un pH plus élevé sont observés dans les moûts botrytisés, comme cela été montré dans des études précédentes (Bocquet *et al.*, 1995; Cilindre *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2011).

L'acidité totale diminue de 32% dans le moût S5S par rapport au moût S1S. L'acidité totale est majoritairement représentée par les acides tartrique et malique qui sont responsables de 90% de l'acidité totale (Conde *et al.*, 2007). L'acidité totale est croissante de l'intérieur vers l'extérieur de la baie de raisin (Blouin et Gimberteau, 2000). Les résultats obtenus rendent compte d'une forte corrélation entre l'acidité totale et la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,9138$) et en acide malique ($R^2 = 0,8416$) dans les moûts sains, au cours du pressurage. L'acide tartrique est un acide fort et le pH du raisin dépend beaucoup de la « richesse » en acide tartrique (Blouin et Gimberteau, 2000). On observe ainsi une forte corrélation entre la concentration en acide tartrique et le pH ($R^2 = 0,949$) dans les moûts sains Chardonnay 2014, au cours du pressurage.

La concentration en potassium est de 1 à 26% plus élevée dans les moûts botrytisés que celle des moûts sains, tandis que la concentration en calcium n'est pas différente entre les moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014. On sait qu'une contamination du raisin par *Botrytis cinerea* entraîne la sécrétion d'un grand nombre d'enzymes dans les baies de raisin (Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010; Billon *et al.*, 2011) qui vont dégrader les barrières physiques (cuticule et parois cellulaires) des raisins. Le potassium qui est localisé majoritairement dans la pellicule (Possner et Kliwer, 1985; Davies *et al.*, 2006) va être ainsi extrait : plus facilement dans les moûts, au cours du pressurage. Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Bocquet *et al.*, 1995; Cilindre *et al.*, 2007). Une forte corrélation entre la concentration en acide gluconique et en potassium ($R^2 = 0,9844$) est observée ; de plus, la concentration en acide gluconique est également fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,9104$) et avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,9488$), au cours du pressurage des raisins botrytisés.

L'acide gluconique correspond à un métabolite secondaire de *B.cinerea* et peut être utilisé comme un marqueur de la contamination fongique (Ribéreau-Gayon, 1988). Sa teneur est corrélée avec le pourcentage de raisins pourris estimé visuellement ; ce pourcentage peut également être corrélé avec l'activité laccase (Bocquet *et al.* 1996). Il est important de noter que la concentration en acide gluconique est significativement plus élevée dans les moûts botrytisés que dans les moûts sains au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014. La concentration en acide gluconique est significativement plus élevée dans le moût botrytisé de début du pressurage (S1B) et diminue de 66% dans le moût de fin du pressurage. Cela pourrait être expliqué par la présence de *Botrytis cinerea* sur la pellicule des baies de raisin qui est extrait de façon plus importante au début du pressurage. Une concentration faible en acide gluconique détectée dans les vins issus de raisins sains suggère que *B.cinerea* est probablement présent sur quelques grappes de raisin au moment du prélèvement des raisins Chardonnay 2014. Des observations similaires ont été faites au cours d'études précédentes (Bocquet *et al.*, 1995; Cilindre *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2011).

Au cours de son développement, *Botrytis cinerea* consomme des sucres présents dans la baie de raisin. Cependant, une augmentation de la concentration en sucres dans les moûts botrytisés par rapport aux moûts sains a été observée. Cela pourrait être expliqué par une déshydratation des baies de raisin (Ribéreau-Gayon, 1988) ou par des baies plus mûres (Blouin et Gimberteau, 2000). La concentration en sucres est stable au cours du pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. Leur teneur est similaire à des concentrations déjà observées au cours d'études antérieures (Yokotsuka, 1990; Darias-Martin *et al.*, 2004).

La durée des fermentations alcooliques des moûts sains et botrytisés, au début du pressurage, est plus élevée que celle des moûts en fin de pressurage. Cela pourrait être expliqué par la différence de composition de ces moûts au cours du fractionnement au pressurage.

La différence de durée de fermentation entre les moûts sains et botrytisés, au début du pressurage, peut être expliquée par l'impact de *Botrytis cinerea* sur l'extraction de certains composés : les moûts botrytisés contiendraient plus d'hétéropolysaccharides qui sont produits par *Botrytis cinerea* et qui semblent exercer un effet inhibiteur sur la fermentation alcoolique (Blouin et Gimberteau, 2000; Gil-ad *et al.*, 2001).

En comparant les corrélations entre les caractéristiques des moûts sains et botrytisés, nos résultats montrent qu'il y a plus de fortes corrélations pour les moûts botrytisés (9) que pour les moûts sains (3). Le pH et les concentrations de tous les acides sont fortement corrélés dans les moûts botrytisés. Dans les moûts sains, nous observons seulement de fortes corrélations entre la concentration en acide tartrique et le pH ($R^2 = 0,949$) et l'acidité totale ($R^2 = 0,9138$). De plus, le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,9893$) sont fortement corrélés dans les moûts, au cours du pressurage des raisins sains. Ces résultats indiquent qu'une contamination des baies de raisin par *Botrytis cinerea* va influencer la composition des jus extraits au cours du pressurage.

2. Les vins sains et botrytisés de la vendange 2014

2.1. Impact du fractionnement au pressurage sur la composition des vins

La composition des moûts sains et botrytisés est présentée dans les Figure 61, Figure 62, Figure 63 et le Tableau 49.

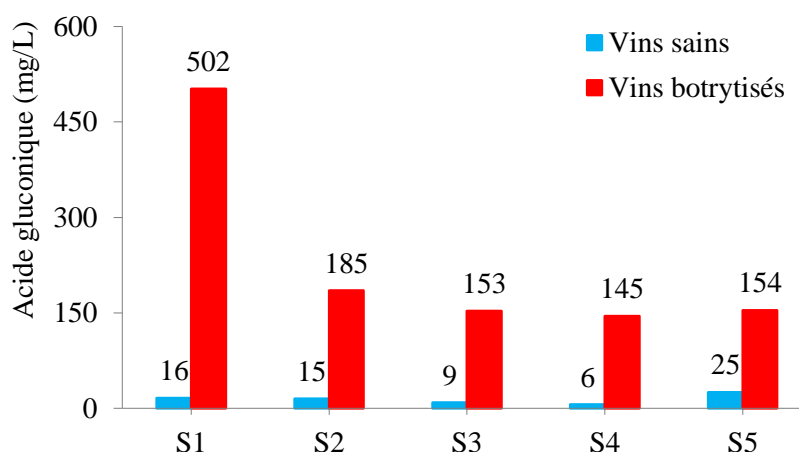


Figure 61. Comparaison de la concentration en acide gluconique des vins sains et des vins botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

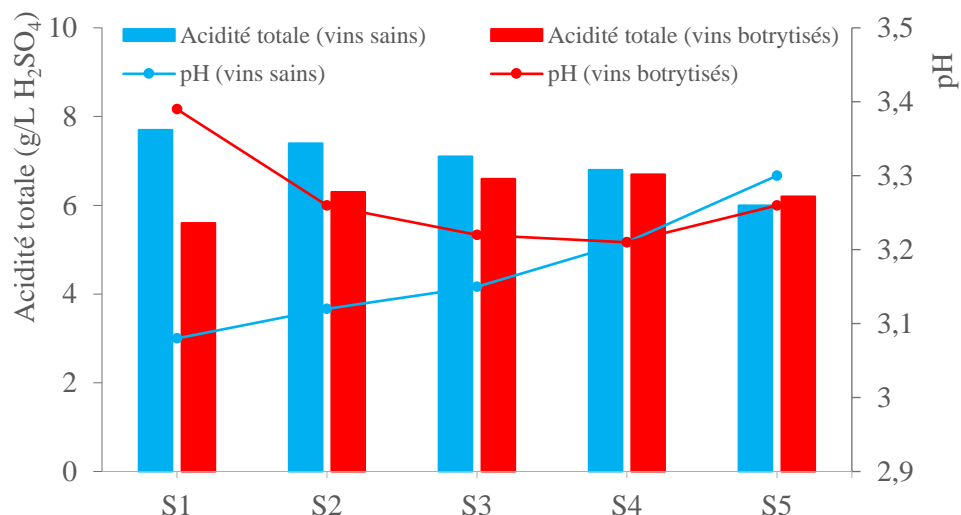


Figure 62. Comparaison de l'acidité totale et du pH des vins sains et des vins botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

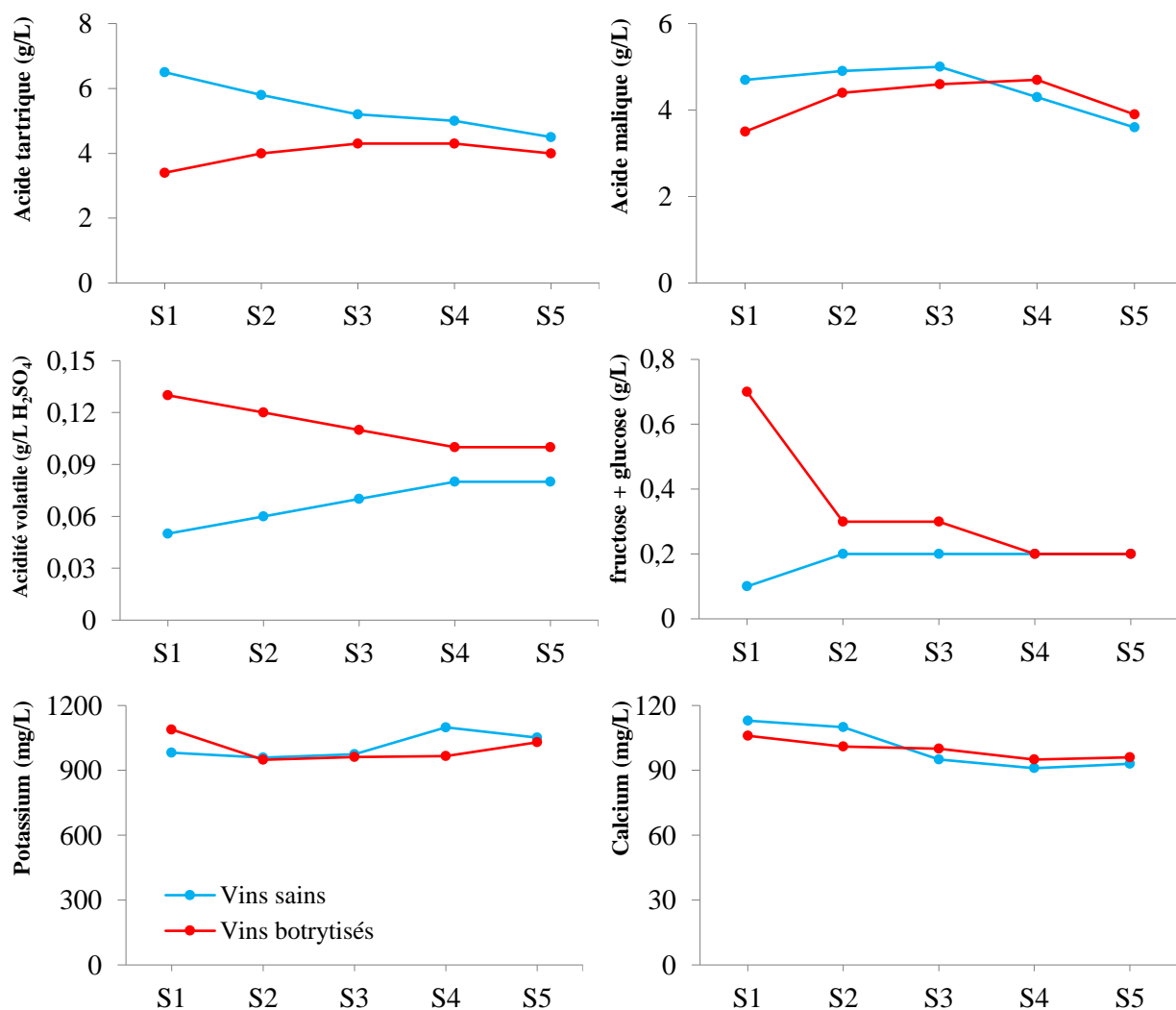


Figure 63. Comparaison des paramètres œnologiques des vins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Tableau 49. Composition des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Glucose + fructose (g/L)	Acidité volatiles (g/L H ₂ SO ₄)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)
S1	3,08	7,7	16	4,7	6,5	0,1	0,05	113	981
S2	3,12	7,4	15	4,9	5,8	0,2	0,06	110	959
S3	3,15	7,1	9	5,0	5,2	0,2	0,07	95	975
S4	3,21	6,8	6	4,3	5,0	0,2	0,08	91	1099
S5	3,30	6,0	25	3,6	4,5	0,2	0,08	93	1051
S1	3,39	5,6	502	3,5	3,4	0,7	0,13	106	1089
S2	3,26	6,3	185	4,4	4,0	0,3	0,12	101	949
S3	3,22	6,6	153	4,6	4,3	0,3	0,11	100	961
S4	3,21	6,7	145	4,7	4,3	0,2	0,10	95	966
S5	3,26	6,2	154	3,9	4,0	0,2	0,10	96	1030

La concentration en acide gluconique détectée dans les vins de base est présentée dans le Figure 61. Sa valeur diminue de 16 mg/L (vin S1S) à 6 mg/L (vin S4S), puis augmente de 317% du vin S4S au vin S5S (25 mg/L). La concentration en acide gluconique est la plus élevée dans le moût S1B (502 mg/L), elle diminue ensuite rapidement à partir du vin S2B (182 mg/L) jusqu'au vin S4B (145 mg/L) et vin S5B (154 mg/L).

La concentration en acide gluconique des vins botrytisés est toujours plus élevée que celle des vins sains. Cette différence est la plus marquée dans le vin de début du pressurage (S1B : 502 mg/L et S1S : 16 mg/L).

L'acidité totale (Figure 62) et la concentration en acide tartrique (Figure 63) sont les plus élevées dans le vin S1S (respectivement 7,7 g/L H₂SO₄ et 6,5 g/L), puis elles diminuent jusqu'au vin S5S (respectivement 6,0 g/L H₂SO₄ et 4,5 g/L). L'acidité totale des vins botrytisés est la plus faible dans le moût S1B (5,6 g/L H₂SO₄) ; elle augmente ensuite du vin S1B au vin S4B (6,7 g/L H₂SO₄), puis elle diminue du vin S4B au vin S5B (6,2 g/L H₂SO₄).

Les concentrations en acide tartrique et en acide malique augmentent respectivement de 3,4 à 4,3 g/L et de 3,5 à 4,7 g/L du vin S1B au vin S4B, et diminuent ensuite dans le vin S5B (respectivement 4,0 g/L et 3,9 g/L).

La concentration en acide tartrique des vins botrytisés est toujours plus faible que celle des vins sains ; cette différence est la plus élevée dans le vin de début de pressurage (S1B : 6,5 g/L et S1S : 3,4 g/L). La concentration en acide malique des vins sains S1S et S3S est plus élevée que celle des vins botrytisés correspondants. Nous observons la tendance inverse pour les vins S4 à S5.

L'acidité totale des vins botrytisés est plus faible que celle des vins sains issus des moûts de début du pressurage, et la tendance inverse est observée dans les vins de la fin du pressurage des raisins (S5B : 6,2 g/L H₂SO₄ et S5S : 6,0 g/L H₂SO₄).

Une diminution du pH est observée du vin S1S (3,08) au vin S5S (3,3). Le pH des vins botrytisés est plus élevé que celui des vins sains issus des moûts du début de pressurage (S1B : 3,39 et S1S : 3,08), ensuite cette différence est moins importante dans les vins de S2 à S4.

Le TAV des vins augmente du début (S1S : 11,62% vol) à la fin du pressurage des raisins (S5S : 12,24% vol). Pour les vins botrytisés, sa valeur et celle de l'acidité volatile diminuent respectivement de 12,69 à 12,5% vol et de 0,13 à 0,11 g/L H₂SO₄ dans les vins de S1B à S3B. Tandis que l'acidité totale est stable dans les vins de S4B à S5B (0,1 g/L H₂SO₄), le TAV augmente dans les vins de S3B à S5B (12,68% vol). Le TAV des vins sains est plus faible que celui des vins botrytisés.

La différence de concentration en sucres est la plus élevée dans le vin S1 (S1B : 0,7 g/L et S1S : 0,1 g/L), ensuite cette différence diminue à partir du vin S2 jusqu'au vin S3. La concentration en sucres dans les vins sains S4S et S5S est similaire à celle des vins botrytisés correspondants.

Une légère augmentation de la teneur en sucres du vin S1S (0,1 g/L) au vin S2S (0,2 g/L) est observée, et sa teneur est stable jusqu'au vin S5S. La concentration en sucres est la plus élevée dans le vin S1B (0,7 g/L) ; elle diminue ensuite de 57% dans le vin S2B puis elle est stable dans les vins S2B (0,3 g/L) à S5B (0,2 g/L).

Tandis que la concentration en potassium augmente de 981 à 1099 mg/L, celle en calcium diminue de 113 à 91 mg/L du vin S1S au vin S4S. L'évolution de la concentration en potassium des vins botrytisés est la même que celle observée pour le TAV : sa concentration est la plus élevée dans le vin S1B (1089 mg/L) et est la plus faible dans le vin S3B (961 mg/L). La concentration en calcium dans les vins botrytisés varient de 95 à 106 mg/L.

2.2. Corrélations entre les caractéristiques des vins

2.2.1. Les vins sains

Le Tableau 50 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques des vins sains Chardonnay 2014.

Tableau 50. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Glucose + fructose (g/L)	TAV* (% vol)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Protéines totales (Bradford, mg/L)	PS totaux (mg/L)
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,992 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,151	0,180	1									
Acide malique (g/L)	0,781	0,753	0,358	1								
Acide tartrique (g/L)	0,877 ^b	0,883 ^b	0,019	0,442	1							
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,806	0,779	0,002	0,408	0,940 ^a	1						
Glucose + fructose (g/L)	0,359	0,360	0,019	0,039	0,636	0,596	1					
TAV* (% vol)	0,838	0,835	0,015	0,396	0,977 ^a	0,921 ^a	0,747	1				
Calcium (mg/L)	0,648	0,637	0,034	0,271	0,847	0,925 ^a	0,469	0,774	1			
Potassium (mg/L)	0,517	0,439	0,013	0,524	0,410	0,606	0,090	0,377	0,542	1		
Protéines totales (Bradford, mg/L)	0,025	0,036	0,142	0,101	0,228	0,183	0,674	0,274	0,214	0,023	1	
PS totaux (mg/L)	0,949 ^a	0,968 ^a	0,308	0,833	0,755	0,625	0,217	0,689	0,050	0,373	0,003	1

* TAV : titre alcoométrique volumique ; a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

D'après les résultats obtenus pour les vins de base (Tableau 50), excepté la relation évidente entre le pH et l'acidité totale ($R^2 = 0,992$), nous observons que la concentration en acide tartrique est fortement corrélée avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,940$), le TAV ($R^2 = 0,977$), ainsi qu'avec le pH, l'acidité totale (respectivement $R^2 = 0,877$ et $R^2 = 0,883$) et avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,847$).

Nos résultats montrent également que l'acidité volatile est fortement corrélée avec le TAV ($R^2 = 0,921$) et avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,925$) des vins sains Chardonnay 2014.

2.2.2. Les vins botrytisés

Le Tableau 51 présente les corrélations entre les caractéristiques œnologiques des vins botrytisés Chardonnay 2014.

Tableau 51. Corrélations entre les caractéristiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	Glucose + fructose (g/L)	TAV* (% vol)	Calcium (mg/L)	Potassium (mg/L)	Protéines totales (Bradford, mg/L)	PS totaux (mg/L)
pH	1											
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,965 ^a	1										
Acide gluconique (mg/L)	0,932 ^a	0,812	1									
Acide malique (g/L)	0,830	0,922 ^a	0,639	1								
Acide tartrique (g/L)	0,987 ^a	0,983 ^a	0,875 ^b	0,858 ^b	1							
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,649	0,555	0,679	0,289	0,613	1						
Glucose + fructose (g/L)	0,863 ^b	0,728	0,962 ^a	0,523	0,785	0,778	1					
TAV* (% vol)	0,586	0,720	0,370	0,854 ^b	0,670	0,103	0,228	1				
Calcium (mg/L)	0,685	0,591	0,729	0,349	0,624	0,956 ^a	0,860 ^b	0,103	1			
Potassium (mg/L)	0,759	0,780	0,678	0,897 ^b	0,745	0,182	0,541	0,716	0,259	1		
Protéines totales (Bradford, mg/L)	0,867 ^b	0,859 ^b	0,751	0,685	0,919 ^a	0,560	0,641	0,642	0,521	0,538	1	
PS totaux (mg/L)	0,792	0,673	0,843	0,400	0,764	0,923 ^a	0,872 ^b	0,217	0,858 ^b	0,324	0,785	1

* TAV : titre alcoométrique volumique ; a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Nos résultats montrent que la concentration en acide gluconique est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,932$), la concentration en sucres ($R^2 = 0,962$), la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,875$) et l'acidité totale ($R^2 = 0,812$) des vins botrytisés Chardonnay 2014.

La concentration en acide malique est fortement corrélée avec l'acidité totale et la concentration en potassium (respectivement $R^2 = 0,922$, $R^2 = 0,897$) et également avec la concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,858$) et le TAV ($R^2 = 0,854$). La concentration en acide tartrique est également fortement corrélée avec l'acidité totale et le pH (respectivement $R^2 = 0,983$ et $R^2 = 0,987$) pour les vins botrytisés Chardonnay 2014.

Nos résultats montrent également de fortes corrélations : concentration en sucres - pH ($R^2 = 0,863$) et concentration en sucres - concentration en calcium ($R^2 = 0,860$). De plus, la concentration en calcium est également fortement corrélée avec l'acidité volatile ($R^2 = 0,956$).

2.3. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins

2.3.1. Les moûts et les vins issus de raisins sains

Le Tableau 52 montre les corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014.

D'après les résultats obtenus, nous observons que le pH et l'acidité totale dans les moûts sont fortement corrélés avec la concentration en acide tartrique et avec le TAV dans les vins de Chardonnay 2014.

La concentration en acide tartrique dans les moûts est fortement corrélée avec le pH ($R^2 = 0,901$), l'acidité totale ($R^2 = 0,926$), le TAV et la concentration en acide tartrique (respectivement $R^2 = 0,932$ et $R^2 = 0,932$) dans les vins de Chardonnay 2014.

Tableau 52. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains Chardonnay 2014

		Moûts sains									
Vins sains		pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)	
		pH	0,985 ^a	0,997 ^a	0,055	0,811	0,901 ^a	0,145	0,406	0,709	0,484
		Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,997 ^a	0,991 ^a	0,026	0,823	0,926 ^a	0,202	0,393	0,711	0,440
		Acide gluconique (mg/L)	0,190	0,179	0,016	0,548	0,134	0,754	0,125	0,001	0,158
		Acide malique (g/L)	0,726	0,783	0,246	0,868 ^b	0,520	0,171	0,056	0,393	0,834
		Acide tartrique (g/L)	0,889 ^b	0,864 ^b	0,002	0,525	0,932 ^a	0,070	0,723	0,810	0,202
		Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,770	0,779	0,051	0,389	0,781	0,001	0,794	0,844	0,248
		Potassium (mg/L)	0,398	0,479	0,619	0,249	0,267	0,078	0,283	0,541	0,655
		Calcium (mg/L)	0,618	0,605	0,036	0,223	0,623	5E-6	0,771	0,945 ^a	0,196
		TAV* (% vol)	0,852 ^b	0,836	0,0002	0,528	0,932 ^a	0,048	0,769	0,692	0,148
		Glucose + fructose (g/L)	0,395	0,370	0,079	0,138	0,595	0,0001	0,850	0,290	0,010

* TAV : titre alcoométrique volumique ; a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

La concentration en acide malique des moûts et le pH, l'acidité totale et la concentration en acide malique des vins sont également fortement corrélés (respectivement $R^2 = 0,811$, $R^2 = 0,823$ et $R^2 = 0,868$).

La concentration en sucres des moûts est fortement corrélée avec la concentration en calcium ($R^2 = 0,945$) des vins. De plus, des corrélations relativement élevées sont observées entre concentration en sucres des moûts - concentration en acide tartrique des vins, et entre concentration en sucres des moûts - acidité volatile des vins (respectivement $R^2 = 0,810$ et $R^2 = 0,844$).

De plus, nos résultats montrent que la concentration en potassium, en calcium et en azote assimilable des moûts sont faiblement corrélées avec les paramètres des vins de Chardonnay 2014, exceptée la corrélation entre la concentration en calcium des moûts et celle des sucres des vins de Chardonnay 2014 ($R^2 = 0,850$).

2.3.2. Les moûts et les vins issus de raisins botrytisés

Les corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014 sont présentées dans le Tableau 53.

Excepté pour l'acidité volatile, tous les paramètres liés aux acides et le pH dans les moûts sont fortement corrélés aux mêmes paramètres dans les vins. Le développement de *Botrytis cinerea* sur le raisin conduit habituellement à une dégradation des acides organiques principaux (acide tartrique et acide malique) dans les raisins (Ribéreau-Gayon, 1988; Donèche, 1993; Blouin et Gimberteau, 2000). Ainsi, une concentration faible de ces acides et une faible acidité totale dans les moûts botrytisés, ainsi qu'un pH plus élevé sont observés dans les moûts botrytisés, comme cela été montré dans des études précédentes (Bocquet *et al.*, 1995; Cilindre *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2011). Cela pourrait expliquer que le pH des moûts botrytisés est fortement corrélé avec la concentration en acide malique ($R^2 = 0,881$), et en acide tartrique ($R^2 = 0,976$), et également avec la concentration en acide gluconique ($R^2 = 0,912$) des vins botrytisés Chardonnay 2014.

La concentration en potassium des vins est fortement corrélée avec l'acidité totale, la concentration en acide tartrique (respectivement $R^2 = 0,941$ et $R^2 = 0,962$.) des moûts botrytisés Chardonnay 2014.

La concentration en calcium des moûts est également fortement corrélée avec la concentration en calcium et l'acidité volatile (respectivement $R^2 = 0,912$ et $R^2 = 0,916$) des vins botrytisés Chardonnay 2014.

Tableau 53. Corrélations entre les caractéristiques des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins botrytisés Chardonnay 2014

		Moûts botrytisés								
		pH	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acide gluconique (mg/L)	Acide malique (g/L)	Acide tartrique (g/L)	Potassium (mg/L)	Calcium (mg/L)	Sucres (g/L)	Azote assimilable (mg/L)
Vins botrytisés	pH	0,986 ^a	0,900 ^b	0,944 ^a	0,981 ^a	0,881 ^b	0,019	0,755	0,042	0,881 ^b
	Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	0,963 ^a	0,924 ^a	0,830	0,956 ^a	0,888 ^b	0,001	0,737	0,111	0,738
	Acide gluconique (mg/L)	0,912 ^a	0,781	0,995 ^a	0,907 ^a	0,792	0,134	0,672	0,0002	0,981 ^a
	Acide malique (g/L)	0,881 ^b	0,949 ^a	0,637	0,872 ^b	0,921 ^a	0,026	0,499	0,239	0,523
	Acide tartrique (g/L)	0,976 ^a	0,911 ^a	0,893 ^b	0,978 ^a	0,881 ^b	0,001	0,744	0,088	0,825
	Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	0,534	0,333	0,736	0,521	0,306	0,158	0,916 ^a	0,067	0,751
	Potassium (mg/L)	0,848	0,941 ^a	0,641	0,841	0,962 ^a	6E-05	0,307	0,170	0,549
	Calcium (mg/L)	0,582	0,382	0,775	0,555	0,362	0,231	0,912 ^a	0,099	0,766
	TAV* (% vol)	0,656	0,800	0,369	0,674	0,760	0,237	0,263	0,603	0,286
	Glucose + fructose (g/L)	0,812	0,638	0,969 ^a	0,794	0,646	0,239	0,746	0,026	0,963 ^a

* TAV : titre alcoométrique volumique ; a : $R^2 \geq 0,9$; b : $0,85 \leq R^2 < 0,9$

Nos résultats montrent également que la concentration en sucres des vins est fortement corrélée avec la concentration en acide gluconique, en azote assimilable et aussi avec le pH des moûts botrytisés Chardonnay 2014 ($R^2 = 0,969$, $R^2 = 0,963$, $R^2 = 0,812$). De plus, la concentration en azote assimilable des moûts est également fortement corrélée avec la concentration en acide gluconique ($R^2 = 0,981$) et avec le pH ($R^2 = 0,881$) des vins botrytisés Chardonnay 2014.

2.4. Composition protéique et identification des protéines

Les profils électrophorétiques des protéines des vins issus des fractionnements au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014 sont présentés dans les Figure 64 et Figure 65.

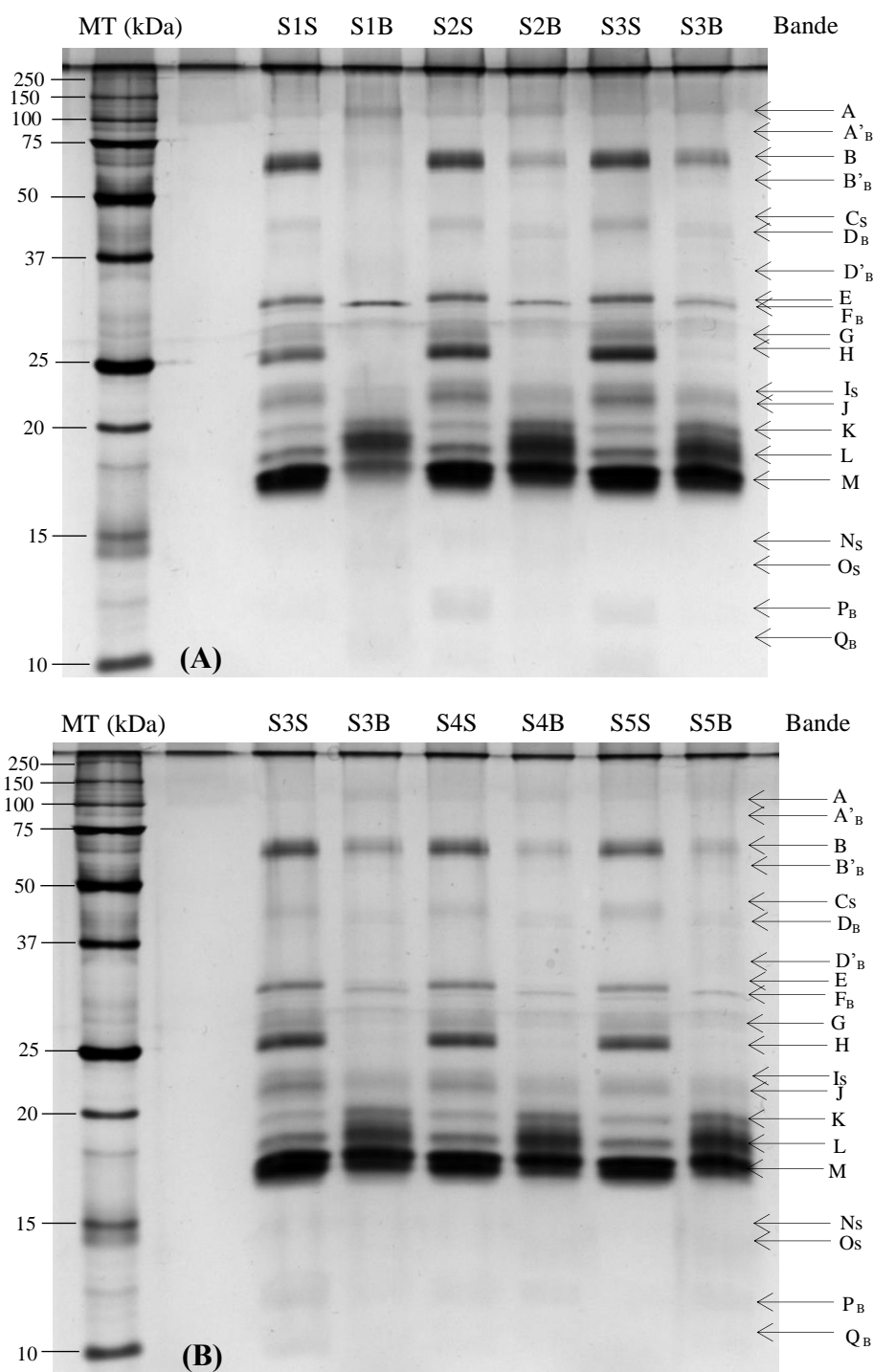


Figure 64. Comparaison des profils électrophorétiques des protéines des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. MT, marqueur de taille. SDS-PAGE avec révélation au nitrate d'argent. A, B, ..., Q, nom des bandes protéiques
 (A) : profils électrophorétiques des protéines des vins S1, S2 et S3 ; (B) : profils électrophorétiques des protéines des vins S3, S4 et S5

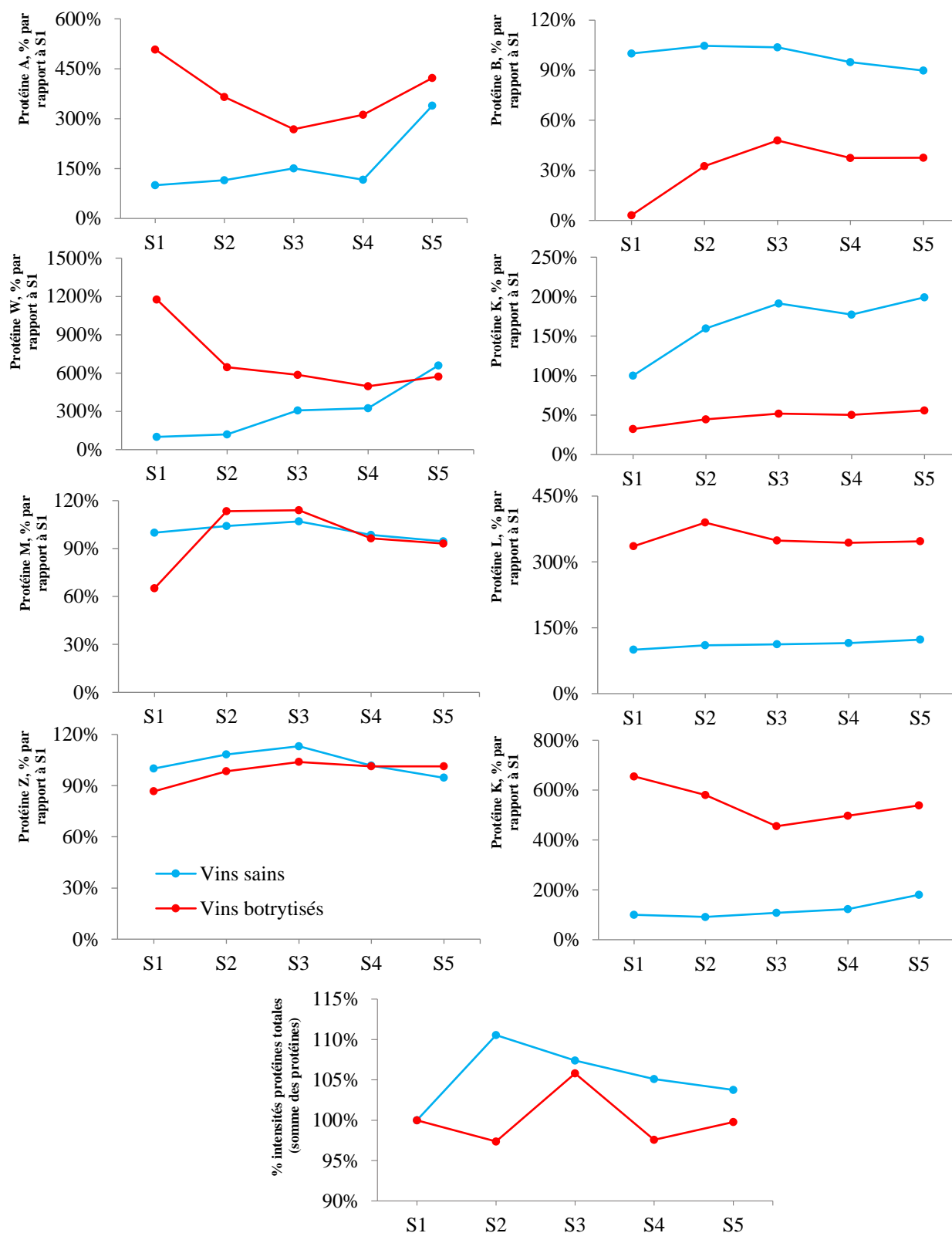


Figure 65. Evolution des protéines majeures et protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1S) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. Protéine W : somme des protéines E et F ; Protéine Z : somme des protéines I et J

Une analyse SDS-PAGE avec coloration au bleu de Coomassie (Figure 66), a été réalisée dans l'objectif de caractériser et d'identifier, par spectrométrie de masse, les protéines du vin sain (S2S) et du vin botrytisé (S2B) Chardonnay 2014, en comparant les 2 profils protéiques.

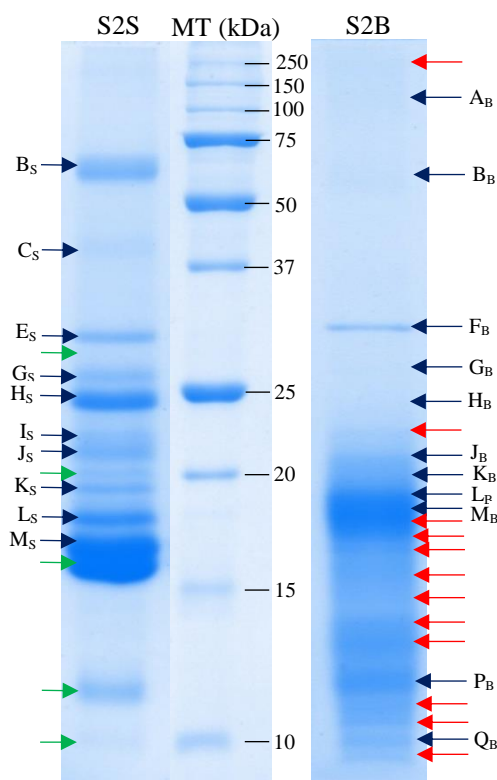


Figure 66. Comparaison des profils protéiques des vins sains (S2S) et botrytisés (S2B) de Chardonnay 2014 après séparation sur gel SDS-PAGE et coloration au bleu de Coomassie. Les vins ont été concentrés 30 fois par ultrafiltration (MWCO 10kDa). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins. MT, marqueur de taille (kDa). A, B, ..., Q, nom des bandes protéiques majeures. Les flèches vertes et rouges sont des bandes protéiques supplémentaires analysées par spectrométrie de masse (LC-MS/MS)

Nous remarquons que le vin sain présente 13 bandes protéiques majeures (Figure 64) : A_s, B_s, C_s, E_s, G_s, H_s, I_s, J_s, K_s, L_s, M_s, N_s, O_s, alors que 16 bandes protéiques majeures sont observées dans le vin botrytisé : A_B, A'_B, B_B, B'_B, D_B, D'_B, E_B, F_B, G_B, H_B, J_B, K_B, L_B, M_B, P_B, Q_B.

A partir des profils protéiques des vins, nous observons que 9 bandes protéiques : A, B, E, G, H, J, K, L, M, sont présentes à la fois dans les vins sains et botrytisés Chardonnay 2014. Les bandes protéique C_s, I_s, N_s, O_s sont présentes uniquement dans les profils protéiques des vins sains, tandis que 7 bandes protéiques : A'_B, B'_B, D_B, D'_B, F_B, P_B, Q_B sont observées seulement dans les vins botrytisés.

En comparant l'intensité des bandes protéiques des vins sains et botrytisés (Figure 65), nos résultats montrent l'intensité des protéines majeures (protéine B, protéine Z (protéines I et J) et protéine G) dans les vins sains est plus élevée que celle des vins botrytisés. Par exemple, l'intensité de la protéine B dans les vins sains varie de 90 à 105% par rapport à S1S, au cours du pressurage, tandis que celle observée dans les vins botrytisés varie de 3 à 48% par rapport à S1S.

Il est important de noter que l'intensité des protéines K et L est plus élevée dans les vins botrytisés que celle déterminée dans les vins sains (Figure 65). A cours du pressurage, leur valeur dans les vins sains varie respectivement de 100 à 180% par rapport à S1S et de 100 à 123% par rapport à S1S ; l'intensité de ces protéines dans les vins botrytisés varie de 455 à 655% par rapport à S1S et de 336 à 390% par rapport à S1S.

La bande protéique M est également une des protéines majeures observées dans les profils protéiques des vins sains et botrytisés Chardonnay 2014 (Figure 64). Son intensité dans le vin S1S est plus élevée que celle déterminée dans le vin S1B (65% par rapport à S1S).

La protéomique a pour but d'identifier et de quantifier les protéines présentes dans les vins afin de mieux comprendre l'impact de *Botrytis cinerea* sur les protéines des vins. Après la migration sur gel de polyacrylamide, les protéines sont révélées par une coloration au bleu de Coomassie (Figure 66), puis analysées par spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Les bandes protéiques majeures (flèches noires) et les bandes protéiques supplémentaires (flèches vertes et rouges) dans le vin sain et le vin botrytisé (Figure 66) ont été choisies afin d'identifier ces protéines par spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), et à partir des banques de données Uniprot et NCBI (Viridiplantae and Fungi). Les analyses ont été réalisées à la Plateforme d'Ingénierie Cellulaire et Analyses des Protéines de l'Université Picardie Jules Verne (Amiens), et les données obtenues sont en cours d'exploitation, afin d'évaluer l'impact de *Botrytis cinerea* sur la composition protéique des moûts et des vins de base, au cours d'un fractionnement au pressurage.

Que ce soit dans la pellicule ou dans la pulpe, les protéines pariétales représentent 5 à 10% du matériel pariétal (Nunan *et al.*, 1998, Deytieux *et al.*, 2007). Ces protéines sont classées en trois groupes suivant leur composition : les protéines riches en proline, riches en glycines, et riches en hydroxyproline. Nunan *et al.* (1998) ont noté la présence de protéines riches en hydroxyproline, acide aminé caractéristique des protéines de la famille des extensines. Cet acide aminé peut représenter jusqu'à 14% des acides aminés des protéines associées aux parois (pourcentage molaire). Les acides aminés soufrés, méthionine et cystéine, sont présents en quantité faible (Huang *et al.*, 2005). Les protéines riches en hydroxyproline forment un réseau de fibres dans les parois cellulaires

des plantes qui serait indépendant du réseau cellulosique. Ce réseau de protéines riches en hydroxyproline renforcerait les parois cellulaires (Carpita et Gibeaut, 1993). Sous l'impact de *Botrytis cinerea* qui sécrète des enzymes pectinolytiques capables de dégrader des PS des parois cellulaires de la pellicule de la baie de raisin (Deytieux *et al.*, 2007; Guadalupe *et al.*, 2009; Fedrizzi *et al.*, 2011; Hong *et al.*, 2017), il pourrait y avoir un impact réel sur l'extractibilité de ces protéines pariétales dans les moûts.

Les tanins se fixent préférentiellement aux protéines mais aussi à des polyosides tels que la cellulose ou bien la pectine. Ils peuvent complexer les métaux de manière quasi-irréversible. Les tanins se fixent particulièrement bien aux protéines hydrosolubles. L'association des tanins à ces protéines rend ces dernières insolubles ce qui empêche l'action des protéines enzymatiques (Schmauch, 2010). La comparaison de la composition phénolique du raisin et du vin montre qu'en plus des molécules directement issues de la baie (Cheynier *et al.*, 1993, Deytieux *et al.*, 2005) ; d'autres polyphénols apparaissent dans le vin. Au cours du pressurage des raisins et de la vinification, les composés polyphénoliques participent à divers types de réactions, donnant naissance à une multiplicité de structures nouvelles (Cheynier *et al.*, 1993; Deytieux *et al.*, 2005). Ces enzymes d'oxydation tels que la tyrosinase, enzyme naturelle du raisin et la laccase, enzyme apportée par *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise, sont lors du pressurage au maximum de leur activité dans les jus des raisins. L'oxygène n'étant pas un facteur limitant, les conditions sont idéales pour l'oxydation des composés oxydables tels que les polyphénols. La vitesse de consommation et la quantité totale d'oxygène consommée dépendent du cépage, de la maturité du raisin et de l'état sanitaire (le type et la quantité de polyphénols vont fortement varier en fonction du type de cépage) (Dubourdieu et Lavigne, 2003). Les polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, qui possèdent la capacité de précipiter les protéines. Tous ces phénomènes influencent la composition en protéines des vins.

2.5. Concentration en protéines totales et activité protéasique des vins

La concentration en protéines totales déterminée par la méthode de Bradford et l'activité protéasique spécifique (A.S.) des vins sains et botrytisés issus du fractionnement au pressurage est présentée dans la Figure 67 et la Figure 68.

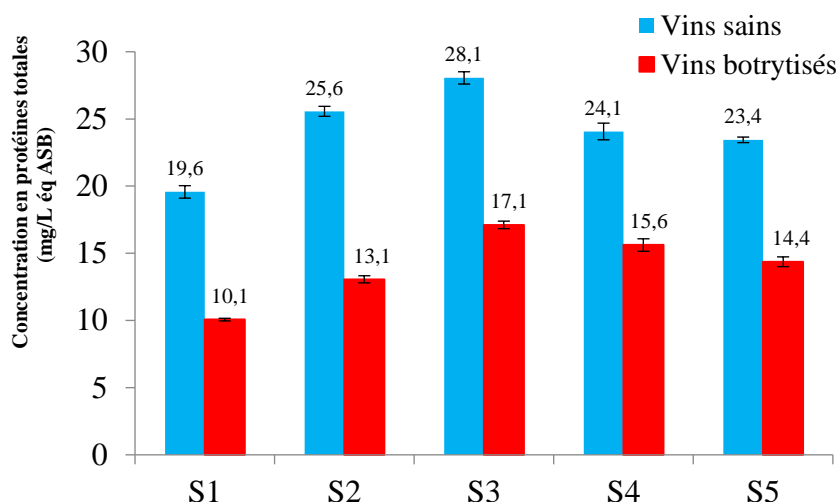


Figure 67. Evolution de la concentration en protéines totales des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014 (mg/L équivalent ASB ; par la méthode de Bradford). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

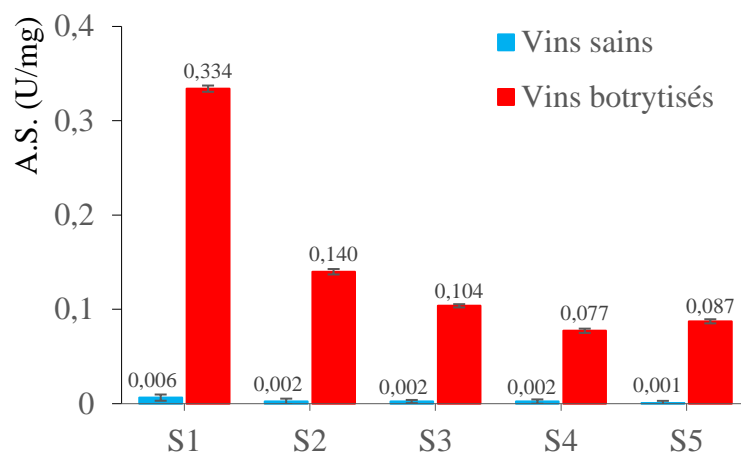


Figure 68. Comparaison de l'activité enzymatique spécifique (A.S.) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. A.S. = Activité enzymatique brute/quantité de protéines totales des vins

Les résultats obtenus par la méthode de Bradford (Figure 67) montrent que la concentration en protéines totales dans les vins sains et botrytisés Chardonnay 2014 augmente respectivement de $0,006 \pm 1,5E-4$ à $0,002 \pm 3,6E-5$ U/mg (+43%) et de $0,334 \pm 3,3E-3$ à $0,104 \pm 1,7E-3$ U/mg (+70%) du vin S1 au vin S3 ; elle diminue ensuite de 16% du vin S3 au vin S5 (S5S : $0,001 \pm 7,1E-6$ U/mg et S5B : $0,087 \pm 2,2E-3$ U/mg). Au cours du pressurage, la concentration en protéines totales des vins sains est de 1,5 à 2 fois plus élevée que celle des vins botrytisés. Nos résultats montrent que la concentration en protéines totales des vins sains et botrytisés est maximale pour le vin S3, et qu'il n'y a pas de corrélation avec le fractionnement des moûts. Les résultats obtenus par la méthode SDS-PAGE (% par rapport à S1) (Figure 65) montrent que la concentration en

protéines totales est maximale à S2S (111% par rapport à S1) pour les vins sains et à S3B (106% par rapport à S1) pour les vins botrytisés. Au cours du pressurage, la concentration en protéines totales des vins sains diminue 6% du vin S2S au vin S5S (104% par rapport à S1), celle des vins botrytisés diminue 8% du vin S3B au vin S4B (98% par rapport à S1), puis augmente un peu dans le vin S5B (100% par rapport à S1). La concentration en protéines totales est plus élevée dans les vins sains que celle des vins botrytisés et diminue au cours du pressurage (pour les vins sains). La différence d'évolution de la concentration en protéines totales entre les deux méthodes utilisées pourrait être expliquée par une forte libération de polyphénols lors de l'opération de décompactage manuel du « gâteau » (opération équivalant à une retousse sur les pressoirs industriels). Or, les polyphénols, qui ne sont pas complètement pris en considération dans le cadre de la correction apportée à la méthode de Bradford, pourraient réagir avec le Bleu Brillant de Coomassie et augmenteraient la réponse obtenue pour les vins issus des moûts extraits en fin de cycle de pressurage, proches de la pellicule (S4 et S5).

L'A.S. déterminée pour le vin sain S1S est de $0,0064 \pm 1,5E-04$ U/mg, celle-ci diminue ensuite dans le vin S2S ($0,0025 \pm 3,5E-05$ U/mg). L'A.S. reste stable dans les vins de S2S à S5S. L'A.S. des vins botrytisés diminue de 74% au cours du pressurage ; elle varie de $0,334 \pm 3,3E-03$ U/mg dans le vin S1B à $0,08 \pm 2,3E-03$ U/mg dans le vin S4B.

De plus, nos résultats montrent que l'A.S. déterminée dans les vins botrytisés est plus élevée que celle mesurée dans les vins sains et qu'elle diminue au cours du pressurage. Par exemple, l'A.S. dans le vin botrytisé S1B ($0,334 \pm 3,3E-03$ U/mg) est 52 fois plus élevée que celle du vin sain S1S ($0,0064 \pm 1,5E-04$ U/mg). Cette différence est plus importante dans les vins issus des moûts de début de pressurage (S1) par rapport aux vins issus des moûts de fin de pressurage (S4 et S5). Nos résultats montrent une relation entre l'activité protéasique et la concentration en acide gluconique des vins botrytisés ($R^2=0,782$). Ces données pourraient expliquer une dégradation des parois cellulaires des raisins « pourris » et une dégradation des protéines solubles après le pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014.

2.6. Teneurs et caractérisation des PS des vins

2.6.1. Les PS

Les concentrations en PS totaux, en MPs, en RG-II et en PRAGs des vins sains et botrytisés sont présentées dans les Figure 69, Figure 70, Figure 71, Figure 72.

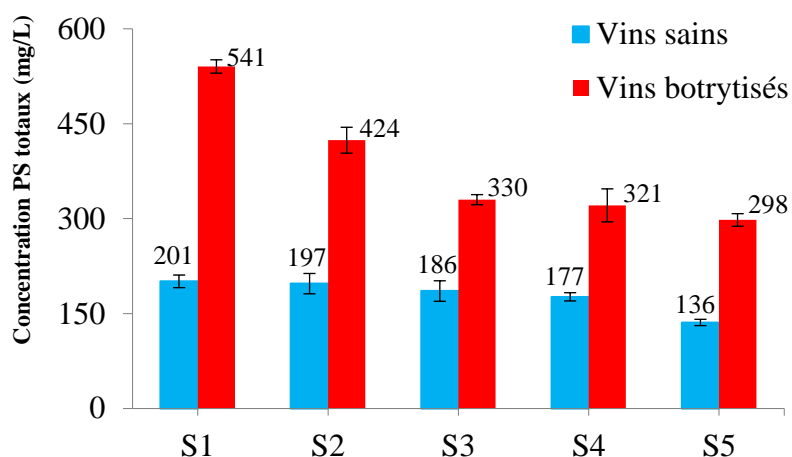


Figure 69. Evolution de la concentration en PS totaux des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

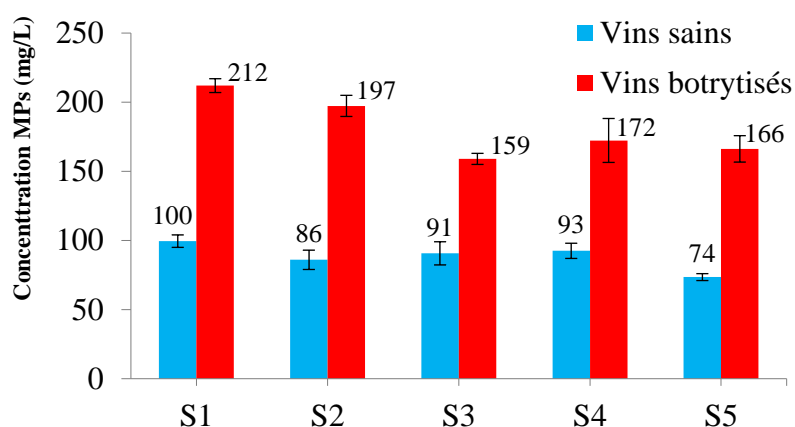


Figure 70. Evolution de la concentration en MPs des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

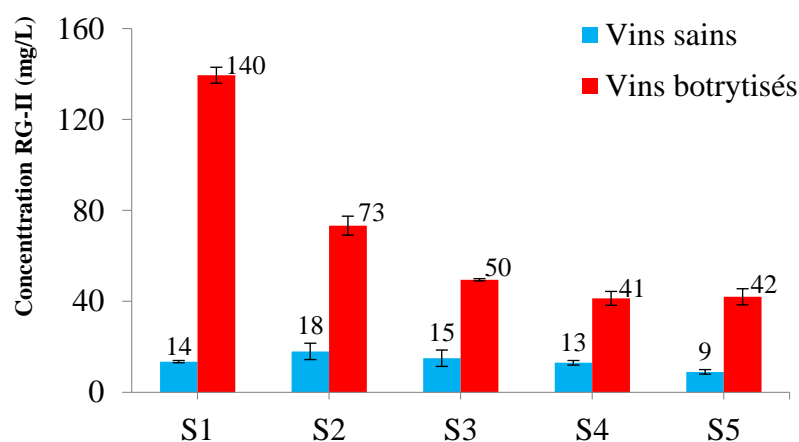


Figure 71. Evolution de la concentration en RG-II des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

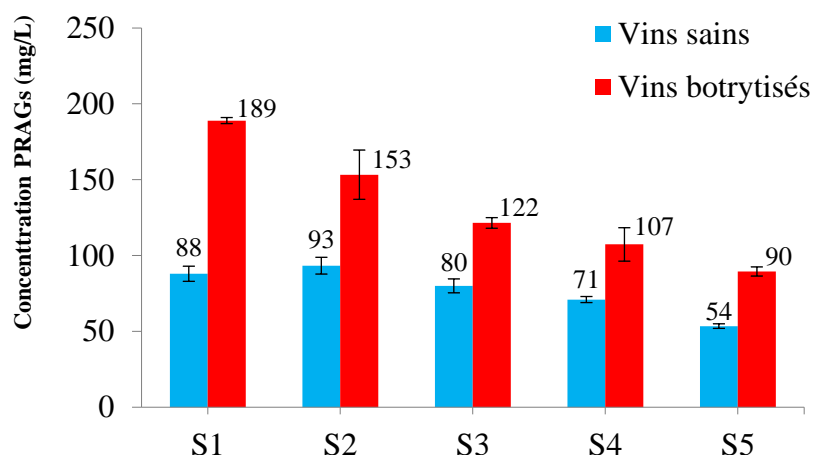


Figure 72. Evolution de la concentration en PRAGs des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage de raisins

Au cours du pressurage, la concentration en PS totaux des vins sains et botrytisés diminue respectivement de 1,8 et de 1,5 fois dans les vins de S1 à S5 (Figure 69). Les résultats obtenus montrent que la concentration en PS totaux est toujours plus élevée dans les vins botrytisés que dans les vins sains. Cette différence de concentrations est la plus élevée dans le vin S1 (S1B : 541 ± 11 mg/L ; S1S : 201 ± 10 mg/L).

D'une manière générale, nous observons que la concentration en MPs dans les vins diminue au cours du pressurage. La concentration en MPs (Figure 70) est la plus élevée dans le vin botrytisé 5S1B et le vin sain S1S (respectivement $212 \pm 5,0$ mg/L et $100 \pm 4,5$ mg/L) et la plus faible dans le vin botrytisé S3B ($159 \pm 4,0$ mg/L) et le vin sain S5S ($74 \pm 2,5$ mg/L). La concentration en MPs des vins botrytisés est toujours plus élevée que celle déterminée dans les vins sains de Chardonnay 2014.

La concentration en RG-II (Figure 71) des vins sains et botrytisés diminue du vin S1 au vin S5, au cours du pressurage. Elle est la plus élevée dans le vin botrytisé S1B ($140 \pm 3,5$ mg/L) et le vin sain S2S ($18 \pm 3,6$ mg/L). La concentration en RG-II des vins botrytisés ($41 \pm 3,1$ - $140 \pm 3,5$ mg/L) est plus élevée que la concentration mesurée dans les vins sains ($9 \pm 1,0$ - $18 \pm 3,6$ mg/L), au cours du pressurage raisins Chardonnay 2014. Les différences observées seraient dues à la contamination des raisins par *Botrytis cinerea* qui va sécréter un grand nombre d'enzymes pectinolytiques et modifier les parois cellulaires des baies. Ceci pourrait permettre une meilleure « extraction » du RG-II dans les moûts comme cela a été observée dans une précédente étude (Francioli *et al.*, 1999). Le RG-II est un PS majeur de la paroi cellulaire de la baie de raisin (Blouin et Gimberteau, 2000), et il est libéré et solubilisé facilement dans les moûts (Doco *et al.*, 1995). Ceci expliquerait une concentration plus élevée de RG-II dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains Chardonnay 2014.

La concentration en PRAGs (Figure 72) des vins sains et botrytisés diminue respectivement de 39% et de 52% au cours du pressurage, du vin S1 au vin S5. Leur concentration est plus faible dans les vins sains par rapport aux vins botrytisés, au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014.

2.6.2. Composition en oses des PS

L'effet du *Botrytis cinerea* sur la composition en oses des PS et le rapport Ara/Gal des vins de base de Chardonnay 2014, au cours du pressurage, est présenté dans le Tableau 54 et la Figure 73.

Tableau 54. Composition en oses des PS (mg/L) de vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

		2-O-MeFuc	Rha	Fuc	2-O-MeXyl	Ara	Api	Xyl	Man	Gal	Glc
Vins sains	S1	0,26±0,0	4,2±0,2	0,36±0,0	0,17±0,0	25,9±1,6	0,25±0,0	0,10±0,0	79,7±3,8	41,3±2,1	3,1±0,1
	S2	0,34±0,1	4,5±0,6	0,46±0,0	0,23±0,0	27,8±1,8	0,33±0,1	0,38±0,1	68,8±5,9	44,1±2,9	3,7±0,6
	S3	0,30±0,1	3,4±0,4	0,34±0,1	0,17±0,0	23,7±1,4	0,31±0,1	0,27±0,1	72,6±6,7	37,9±2,4	4,1±0,7
	S4	0,26±0,0	2,5±0,1	0,31±0,0	0,14±0,0	19,2±0,4	0,44±0,2	0,20±0,1	74,4±4,4	35,4±1,7	4,9±0,9
	S5	0,14±0,0	1,6±0,1	0,22±0,0	0,13±0,0	14,3±0,3	0,29±0,0	0,20±0,0	58,7±1,8	26,5±0,8	4,9±0,0
Vins botrytisés	S1	2,59±0,1	23,6±0,2	1,93±0,0	1,78±0,0	55,9±0,2	2,41±0,1	1,12±0,1	169,5±4,2	99,3±2,2	8,9±0,5
	S2	1,35±0,1	12,2±0,4	1,03±0,1	0,94±0,1	48,3±7,8	1,38±0,2	0,54±0,0	157,8±6,2	73,7±4,6	5,9±0,3
	S3	0,93±0,0	9,7±0,2	0,89±0,0	0,61±0,0	38,7±1,3	0,82±0,1	0,44±0,0	127,0±3,3	57,7±1,3	5,4±0,2
	S4	0,75±0,1	8,6±1,0	0,65±0,1	0,54±0,0	32,9±5,1	0,84±0,0	0,34±0,1	137,9±12,5	51,7±4,3	5,0±0,6
	S5	0,79±0,1	8,0±0,3	0,70±0,1	0,52±0,0	24,4±2,7	0,76±0,0	0,28±0,0	133,1±7,7	46,8±0,9	4,9±0,4

2-O-MeFuc, 2-O-CH₃-fucose ; Rha, rhamnose ; Fuc, fucose ; 2-O-MeXyl, 2-O-CH₃-xylose ; Ara, arabinose ; Api, apiose ; Xyl, xylose ; Man, mannose ; Gal, galactose ; Glc, glucose.

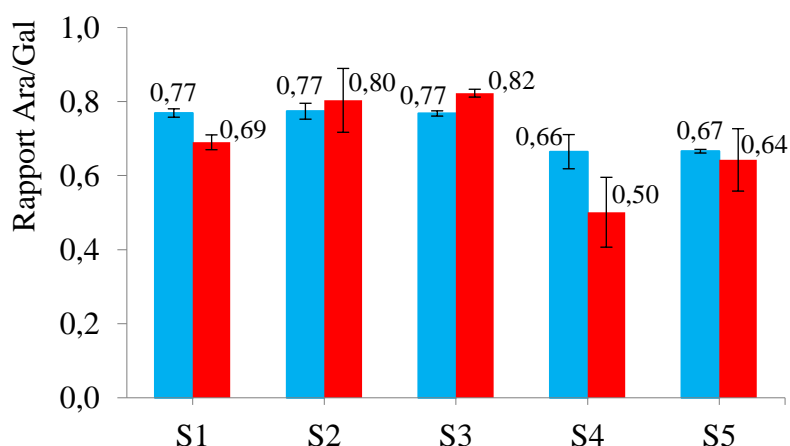


Figure 73. Evolution du rapport Ara/Gal des PS des vins de base issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

La concentration en oses des vins botrytisés est toujours plus élevée que celle déterminée dans les vins sains. Par exemple, la concentration en 2-O-MeFuc et en apiose est respectivement 10 fois et 9,7 fois plus élevée dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains.

Les concentrations en oses diminuent au cours du pressurage des raisins ; elles sont les plus élevées dans le vin botrytisé S1B. Par exemple, la concentration en rhamnose est de $23,6 \pm 0,2$ mg/L dans le vin botrytisé S1B et elle diminue de 66% dans le vin S5B ($8,0 \pm 0,3$ mg/L).

L'évolution de la concentration en oses des PS dans les vins sains, tels que le 2-O-MeFuc, le rhamnose, le fucose, le 2-O-MeXyl, l'arabinose, le xylose et le galactose est la même au cours du pressurage ; leur concentration augmente du vin S1S au vin S2S et diminue jusqu'au vin S5S. Par contre, la concentration en apiose et en glucose augmente respectivement de 76% et de 58% du vin S1 au vin S4, et celle en mannose diminue du vin S1S ($79,7 \pm 3,8$ mg/L) au vin S5S ($58,7 \pm 1,8$ mg/L).

Le rapport Ara/Gal (Figure 73) est stable dans les vins sains de S1S à S3S ($0,77 \pm 0,0$), puis il diminue dans les vins sains de S4 ($0,66 \pm 0,0$) à S5 ($0,67 \pm 0,0$). Dans les vins botrytisés, ce rapport augmente du vin S1B ($0,69 \pm 0,0$) au vin S3B ($0,82 \pm 0,0$), puis il diminue ensuite dans les vins S4B ($0,78 \pm 0,0$) et S5B ($0,64 \pm 0,0$).

2.7. Teneurs et caractérisation des OS des vins

L'effet du *Botrytis cinerea* sur la composition en oses des OS et les rapports Ara/Gal, Rha/A Gal, Ara+Gal/Rha dans les vins de base de Chardonnay 2014, au cours du pressurage, est présenté dans le Tableau 55 et les Figure 74, Figure 75, Figure 76.

Tableau 55. Composition en oses des OS (% molaire) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	A Gal	A Glc	Xylitol	4-O-Me A Glc	
Vins sains	S1	1,3±0,1	0,9±0,1	8,1±0,3	9,8±0,4	16,8±0,1	3,6±0,3	42,5±1,3	10,1±0,9	1,1±0,1	2,4±0,1	3,7±0,1
	S2	1,3±0,2	1,0±0,1	8,6±0,8	13,7±1,8	16,0±0,8	3,3±0,5	29,8±0,9	17,7±3,8	1,1±0,1	3,1±0,7	4,3±0,6
	S3	0,8±0,1	0,8±0,1	5,1±0,3	12,9±2,1	16,4±1,7	4,3±0,6	35,7±0,8	15,6±2,8	0,9±0,3	3,8±0,3	2,7±1,5
	S4	1,1±0,5	0,8±0,4	5,0±2,5	13,4±3,1	19,0±1,1	3,9±0,8	34,7±6,5	12,6±2,5	1,1±0,2	3,9±0,5	4,5±0,7
	S5	1,6±0,2	0,9±0,1	6,6±0,8	13,4±1,3	16,4±0,8	2,8±0,7	39,5±1,5	10,4±2,6	1,1±0,2	3,2±0,4	4,0±0,4
Vins botrytisés	S1	10,9±0,1	0,9±0,1	32,1±0,4	6,1±0,0	9,4±0,3	4,8±0,5	18,2±0,2	13,7±0,8	1,7±0,0	0,9±0,1	1,8±0,1
	S2	8,1±1,3	0,9±0,1	21,1±2,0	9,0±0,5	14,9±0,5	5,4±1,3	23,3±1,2	11,3±1,4	1,5±0,1	1,7±0,4	2,9±0,4
	S3	6,3±0,1	0,9±0,0	15,4±0,1	11,2±0,0	17,0±0,2	3,9±0,2	29,0±0,1	8,8±0,1	1,6±0,1	2,2±0,1	3,8±0,0
	S4	4,3±0,8	0,7±0,1	11,1±0,8	9,5±0,9	17,4±1,1	5,5±1,1	36,4±2,3	7,5±0,8	1,4±0,2	2,8±0,5	3,5±0,5
	S5	4,3±0,8	0,8±0,1	12,5±2,5	10,5±1,1	18,5±0,3	5,2±1,3	33,2±3,0	7,5±0,5	1,5±0,2	2,4±0,3	3,4±0,6

Rha, Rhamnose ; Fuc, Fucose ; Ara, Arabinose ; Xyl, Xylose ; Man, Mannose ; Gal, Galactose ; A Gal, acide galacturonique ; Glc, Glucose ; A Glc, Acide glucuronique ; 4-OMeA Glc, 4-O-méthyl acide glucuronique

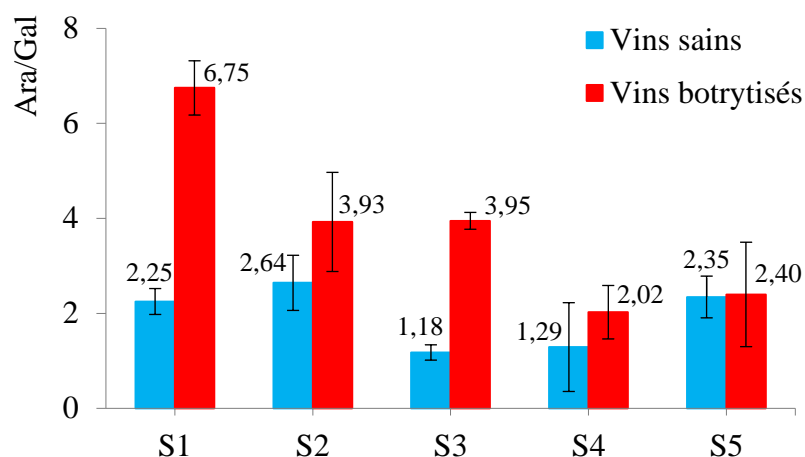


Figure 74. Evolution du rapport Ara/Gal des OS des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

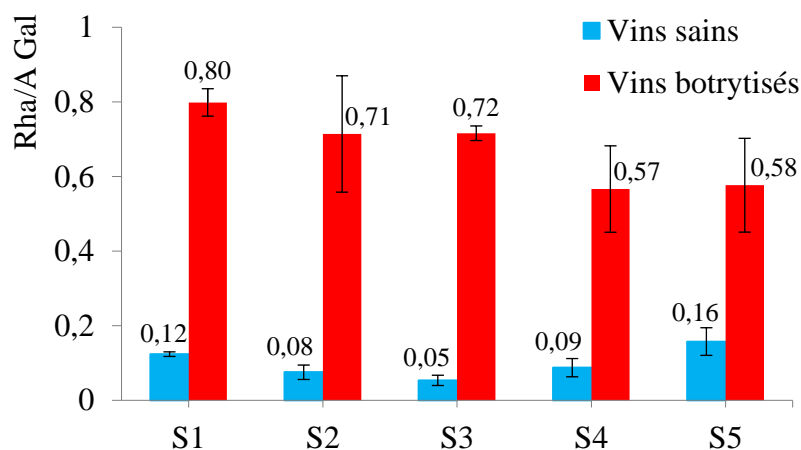


Figure 75. Evolution du rapport Rha/A Gal des OS des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

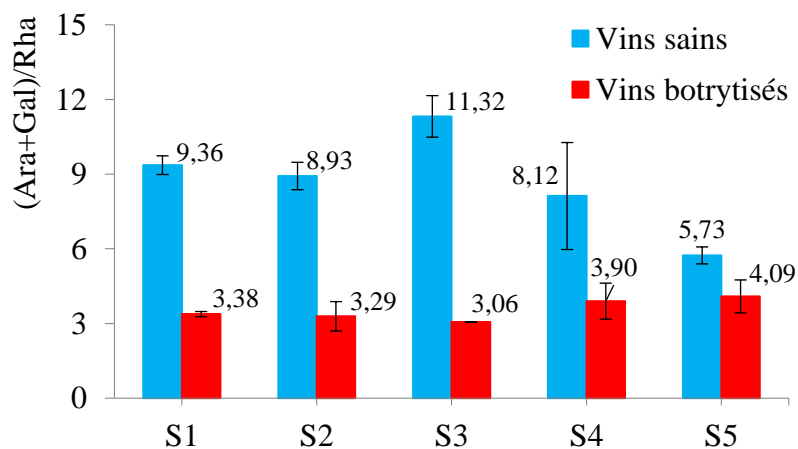


Figure 76. Evolution du rapport (Ara + Gal)/Rha des OS des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins sains et botrytisés Chardonnay 2014. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Nous trouvons que le pourcentage molaire en arabinose, en rhamnose, en acide glucuronique et en galactose dans les vins botrytisés est plus élevé que celui déterminé dans les vins sains. Par exemple, le pourcentage molaire en rhamnose dans les vins botrytisés et les vins sains varie respectivement de $4,3 \pm 0,8$ à $10,9 \pm 0,1$ % molaire et de $0,8 \pm 0,1$ à $1,6 \pm 0,2$ % molaire du vin S1 au vin S5.

Le pourcentage molaire en glucose, en xylose, en xylitol et en acide galacturonique des vins sains est plus élevé que celui déterminé dans les vins botrytisés. Il varie respectivement de $29,8 \pm 0,9$ à $42,5 \pm 1,3$ %, de $9,8 \pm 0,4$ à $13,7 \pm 11,8$ %, de $2,4 \pm 0,1$ à $3,9 \pm 0,5$ % et de $10,1 \pm 0,9$ à $17,7 \pm 3,8$ % molaire dans les vins sains, et respectivement de $18,2 \pm 0,2$ à $36,4 \pm 2,3$ %, de $6,1 \pm 0,0$ à $11,2 \pm 0,1$ %, de $0,9 \pm 0,1$ à $2,8 \pm 0,5$ % et de $7,5 \pm 0,8$ à $13,7 \pm 0,8$ % molaire dans les vins botrytisés.

Le pourcentage molaire en arabinose, en rhamnose et en acide galacturonique des vins botrytisés diminue, tandis que celui en glucose, en mannose, en xylose et xylitol augmente dans les vins de S1 à S5.

Le pourcentage molaire en xylitol augmente du vin S1S ($2,4 \pm 0,1$ % molaire) au vin S4S ($3,9 \pm 0,5$ % molaire), il diminue ensuite dans le vin S5S ($3,2 \pm 0,4$ % molaire).

Le pourcentage molaire en acide galacturonique augmente du vin S1S ($10,1 \pm 0,9$ % molaire) au vin S2S ($17,7 \pm 3,8$ % molaire) et il diminue jusqu'au vin S5S ($10,4 \pm 2,6$ % molaire).

Les pourcentages molaires en fucose et en mannose dans les vins sains varient respectivement de $0,9 \pm 0,1$ à $1,0 \pm 0,1$ %, et de $16,4 \pm 1,7$ à $17,4 \pm 1,1$ % molaire, et diffèrent peu de ceux déterminés dans les vins botrytisés, respectivement de $0,7 \pm 0,1$ à $0,9 \pm 0,1$ % et de $9,4 \pm 0,3$ à $18,5 \pm 0,3$ %.

Nos résultats montrent que les rapports Ara/Gal et Rha/A Gal des vins botrytisés diminuent au cours du pressurage ; le rapport (Ara+Gal)/Rha des vins botrytisés augmente du vin S1 au vin S5. Il n'y a pas de tendance d'évolution particulière de ces rapports, au cours du pressurage.

Le rapport Ara/Gal (Figure 74) des vins botrytisés diminue du vin S1B ($6,75 \pm 0,6$) jusqu'au vin S4B ($2,02 \pm 0,6$) et au vin S5B ($2,40 \pm 1,1$). Ce rapport varie de $1,18 \pm 0,2$ à $2,64 \pm 0,6$ dans les vins sains de S1S à S5S.

Nos résultats montrent que l'évolution du rapport Rha/A Gal (Figure 75) des vins botrytisés, au cours du pressurage, est la même que celle du rapport Ara/Gal ; ce rapport diminue du vin S1B ($0,80 \pm 0,0$) au vin S4B ($0,57 \pm 0,1$) et il augmente ensuite un peu dans le vin S5B ($0,58 \pm 0,1$). Ce rapport est plus faible dans les vins sains par rapport aux vins botrytisés ; sa valeur varie de $0,05 \pm 0,0$ à $0,16 \pm 0,0$ dans les vins de S1S à S5S.

Le rapport (Ara+Gal)/Rha (Figure 76) des vins sains est plus élevé dans le vin S3S ($11,32 \pm 0,8$), est plus faible dans le vin S5S ($5,73 \pm 0,3$). Ce rapport est plus faible dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains ; sa valeur varie de $3,06 \pm 0,0$ à $4,09 \pm 0,7$ dans les vins de S1B à S5B.

2.8. Discussion sur les vins

L'évolution des paramètres œnologiques déterminés pour les vins sains et botrytisés est la même que celle observée pour les moûts sains et botrytisés Chardonnay 2014. Pourtant, la concentration en potassium et en calcium des vins est plus faible que leur concentration dans les moûts. Par exemple, la concentration en potassium des moûts sains est de 1,2 à 1,5 fois plus élevée que celle déterminée dans les vins sains. Les sels formés entre l'acide tartrique et le potassium ou le calcium sont à l'état de sursaturation dans le vin (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998; Davaux *et al.*, 2013) ce qui conduirait à une diminution de la teneur en potassium dans le vin. De fortes corrélations sont observées entre la concentration en acide gluconique et des paramètres œnologiques dans les vins botrytisés durant le pressurage : concentration en acide gluconique - concentration en (glucose+fructose) ($R^2 = 0,962$), concentration en acide gluconique - pH ($R^2 = 0,932$), et concentration en acide gluconique - concentration en acide tartrique ($R^2 = 0,875$).

L'activité protéasique des vins sains et botrytisés

L'activité protéasique (A.S. U/mg) déterminée dans les vins botrytisés est plus élevée que celle mesurée dans les vins sains, et cette activité diminue au cours du pressurage. Par exemple, nous avons trouvé que l'A.S. du vin botrytisé S1B est environ 52 fois plus élevée que l'A.S. du vin sain S1S. Cela peut être expliqué par la présence de *Botrytis cinerea* qui est capable de sécréter un grand nombre de protéases au cours de l'infection des baies de raisin (Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010; Billon *et al.*, 2011). Parmi ces enzymes, il y a différents types de protéases (Espino *et al.*, 2010) : des protéases aspartiques, glutamiques, des protéases à cystéine, à sérine et à thréonine, ainsi que des métalloprotéases (Rawlings, 2010; Rawlings *et al.*, 2012).

Nos résultats montrent que l'activité protéasique des vins botrytisés est plus élevée que celle des vins sains et que la concentration en protéines des vins botrytisés est 1,5 à 2 fois plus faible par rapport aux vins sains. L'activité protéasique diminue au cours du pressurage. L'activité protéasique des vins n'a pas pu expliquer par le changement de la teneur en protéines. Ceux-ci pourraient être affectés par la composition initiale du jus des raisins, le stade de maturité ou une dégradation des protéines de la pulpe et de la paroi cellulaire des raisins par des enzymes protéiques qui ont été sécrétés par *Botrytis cinerea*. Il est important de noter qu'une relation entre l'activité protéasique et la concentration en acide gluconique dans les vins botrytisés ($R^2=0,782$) a été observée.

Teneurs et composition en protéines

Nous remarquons que le vin sain présente 13 bandes protéiques majeures, alors que 16 bandes protéiques majeures sont observées dans le vin botrytisé. A partir des profils protéiques des vins, nous observons que 9 bandes protéiques (A, B, E, G, H, J, K, L, M) sont présentes à la fois dans les vins sains et botrytisés Chardonnay 2014. En comparant l'intensité des bandes protéiques des vins sains et botrytisés (Figure 65), nos résultats montrent que l'intensité des protéines majeures (protéine B, protéine Z (protéines I et J) et protéine G) dans les vins sains est plus élevée que celle des vins botrytisés.

Les résultats obtenus par la méthode de Bradford (Figure 67) montrent que la concentration en protéines totales des vins sains et botrytisés Chardonnay 2014 augmente respectivement de 43% et 70% du vin S1 au vin S3 ; elle diminue ensuite de 16% du vin S3 au vin S5. Les résultats obtenus par la méthode SDS-PAGE (% par rapport à S1) (Figure 65) montrent que la concentration en protéines totales est maximale pour S2 pour les vins sains et pour S3 pour les vins botrytisés. La concentration en protéines totales est plus élevée dans les vins sains que celle des vins botrytisés, et diminue au cours du pressurage (pour les vins sains). La différence d'évolution de la concentration en protéines totales entre les deux méthodes utilisées pourrait être expliquée par une forte libération de polyphénols lors de l'opération de décompactage manuel du « gâteau » (opération équivalant à une retrouse sur les pressoirs industriels). Or, les polyphénols, qui ne sont pas complètement pris en considération dans le cadre de la correction apportée à la méthode de Bradford, pourraient réagir avec le Bleu Brillant de Coomassie et augmenteraient la réponse obtenue pour les vins issus des moûts extraits en fin de cycle de pressurage, proches de la pellicule (S4 et S5).

L'évolution de la composition en protéines des vins sains et botrytisés a été analysée par la méthode SDS-PAGE (Figure 64) qui montre une différence de profils électrophorétiques entre les vins sains et les vins botrytisés avec des masses moléculaires comprises entre 10 à 150 kDa. D'une manière générale, on observe des bandes protéiques de masses moléculaires plus faibles dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains. Ces observations sont similaires à celles faites dans de précédentes études (Dambrouck *et al.*, 2003; Cilindre *et al.*, 2007).

Les bandes protéiques A, B, G, H, K, L et M sont observées dans les vins sains et botrytisés avec des intensités des bandes protéiques différentes (% par rapport à S1). La diminution de l'intensité des bandes protéiques dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains pourrait être due à la dégradation

de ces protéines par des protéases fongiques sécrétées par *Botrytis cinerea* (Marchal *et al.*, 1998; Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Cilindre *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010; Billon *et al.*, 2011). Certaines bandes protéiques sont détectées uniquement dans les vins botrytisés : A', B', D, D', F, P, Q. Ces bandes pourraient correspondre à des protéines soit sécrétées par *Botrytis cinerea*, soit libérées à partir du raisin en réponse à l'infection par *Botrytis cinerea* (Cilindre *et al.*, 2007). Une hydrolyse de certaines protéines du moût ou du vin pourrait également se produire sous l'action de protéases sécrétées par *Botrytis cinerea*, libérant ainsi des protéines de plus faible masse moléculaire.

L'intensité des bandes protéiques B, W (bande E + F), G et Z (bande I + J) est plus élevée dans les vins sains par rapport aux vins botrytisés (Figure 65). Par exemple, au cours du pressurage, l'intensité de la bande protéique B est plus élevée dans les vins sains (de 90 à 105% par rapport à S1S) par rapport aux vins botrytisés (de 3 à 48% par rapport à S1S). Cela pourrait résulter de l'hydrolyse de protéines par des enzymes sécrétées par le champignon ou libérées par la levure dans les vins (Marchal *et al.*, 1996; Dambrouck *et al.*, 2003; Cilindre *et al.*, 2007).

Les bandes protéiques K, L, M sont plus intenses dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains (Figure 65). Par exemple, l'intensité de la bande protéique L est plus élevée dans les vins botrytisés (de 336 à 397% par rapport à S1S) par rapport aux vins sains (de 100 à 123% par rapport à S1S), au cours du pressurage. Ces protéines (masses moléculaires comprises entre 17 et 20 kDa) pourraient correspondre à des chitinases (Ruffner *et al.*, 1995; Ruiz et Ruffner, 2002) et des thaumatines (Marchal *et al.*, 1996; Waters *et al.*, 1996; Tattersall *et al.*, 1997; Dambrouck *et al.*, 2003; Sauvage *et al.*, 2010; Marangon *et al.*, 2011) qui sont les principales protéines solubles retrouvées dans les moûts et sont résistantes à la protéolyse liée aux des protéases de levure (Le Bourse *et al.*, 2011). C'est pourquoi ces protéines sont encore présentes dans les vins après fermentation alcoolique (Waters *et al.*, 1996; Tattersall *et al.*, 1997; Ferreira *et al.*, 2002).

Il est intéressant d'observer l'apparition de bandes entre 13 et 15 kDa dans les vins botrytisés (bandes protéiques P_B et Q_B) qui pourraient correspondre à des protéines sécrétées par *Botrytis cinerea* (Marchal *et al.*, 1998). Ces protéines pourraient également être des produits d'hydrolyse des protéines de raisin par des protéases fongiques, ou des protéines sécrétées par le raisin en réponse à une contamination par *Botrytis cinerea* (Marchal *et al.*, 1998; Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Cilindre *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010; Billon *et al.*, 2011) et qui ne sont pas retrouvées naturellement dans les vins blancs (Sauvage *et al.*, 2010; Marangon *et al.*, 2011).

Ces résultats montrent l'impact de *Botrytis cinerea* sur la composition en protéines de vins élaborés à partir de moûts issus d'un fractionnement au pressurage.

Composition en oses des PS

Nos résultats montrent la présence d'oses neutres composant les PS (Tableau 54) tels que le mannose, le glucose, le rhamnose, l'arabinose, le galactose et le fucose ce qui confirme la présence de structures arabinogalactane, mannane et de type RG dans les PS des vins de base sains et botrytisés Chardonnay 2014. Des observations similaires ont été faites au cours d'études antérieures (Ayestarán *et al.*, 2004; Gao *et al.*, 2015; Martínez-Lapuente *et al.*, 2015; Jégou *et al.*, 2017).

Les enzymes proviennent des raisins (pectinases) ou d'*Aspergillus niger* (enzymes industrielles exogènes) dégradent profondément les substances pectiques acides du moût au vin. Par conséquent, des zones homogalacturonanes représentent dans les substances pectiques acides du moût mais ceux sont absentes des substances pectiques du vin qui correspondent aux « zones hérissées » des substances pectiques acides et aux rhamnogalacturonanes de type II du moût (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2012).

La concentration en galactose et en arabinose est plus faible dans les vins sains que leur concentration dans les vins botrytisés. La concentration en ces oses est plus élevée que celle d'autres oses dans les vins. La présence de ces oses est corrélée avec la présence de PRAGs qui sont extraits dans les moûts au cours du pressurage. La différence de concentrations entre les vins sains et botrytisés pourrait être expliquée par une meilleure extraction des PRAGs à partir des parois cellulaires des baies de raisin (Vidal *et al.*, 2001). Le mannose détecté dans les vins montre la présence de MPs issues de la levure (Vidal *et al.*, 2003; Guadalupe et Ayestarán, 2007). Le glucose détecté pourrait provenir de PS microbiens ou bactériens (levures, *Botrytis cinerea*) libérés notamment au cours de la fermentation (Ciezack *et al.*, 2010; Martínez-Lapuente *et al.*, 2013). La présence de rhamnose confirme la présence de PRAGs (Pellerin *et al.*, 1995) et de RG-II (Vidal *et al.*, 2003) dans les vins sains et botrytisés Chardonnay 2014. D'ailleurs, certains oses rares tels que l'apiose, le 2-O-méthyl-fucose, le 2-O-méthyl-xylose détectés dans les vins de base confirment la présence de RG-II (Vidal *et al.*, 2003). La présence de xylose dans les vins indique la présence de traces d'hémicelluloses qui seraient solubilisées à partir des parois cellulaires de la baie de raisin (Carpita et Gibeau, 1993; Vidal *et al.*, 2003).

Quel que soit la serre, la concentration en glucose dans les vins botrytisés est plus élevée que sa concentration dans les vins sains. Sa teneur est, par exemple, de $3,1 \pm 0,1$ mg/L pour le vin S1S, alors que celle du vin S1B est de $8,9 \pm 0,5$ mg/L. *Botrytis cinerea* peut libérer des β -D-glucanes entre la cuticule et la pulpe des baies de raisin (Dubourdieu et Pucheu-Plante, 1978). Par conséquent, une libération de ces PS pourrait se produire dans le moût au cours du pressurage (Francioli *et al.*, 1999). Des β -glucanases sont également trouvées dans la baie de raisin (Tattersall *et al.*, 1997; Ferreira *et al.*, 2000) et jouent un rôle dans la réponse au stress et la défense contre les infections par des pathogènes (PR-protéines) (Holz *et al.*, 2007).

La concentration en oses majeurs des PS (arabinose, rhamnose, galactose) des vins sains Chardonnay 2014 est dans la même gamme de valeurs que les concentrations observées dans d'autres vins (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016; Jégou *et al.*, 2017). Cependant, elle est plus élevée dans les vins botrytisés que dans les vins sains quel que soit la serre. Ces résultats peuvent être expliqués par la contamination des baies de raisin par *Botrytis cinerea* qui libérerait des enzymes pectinolytiques tels que des pectines méthylestérases et des polygalacturonases pouvant dégrader les parois cellulaires de la baie de raisin (Odile *et al.*, 2003; Gérard, 2014).

Le rapport Ara/Gal (Figure 73) est caractéristique des PRAGs. Ce rapport est compris entre $0,66 \pm 0,0$ et $0,77 \pm 0,0$ pour les vins sains, et entre $0,50 \pm 0,1$ et $0,82 \pm 0,0$ pour les vins botrytisés. Ces rapports sont dans les mêmes gammes de valeurs que celles observées dans des études précédentes (Guadalupe et Ayestarán, 2007; Apolinar-Valiente *et al.*, 2013; Martínez-Lapuente *et al.*, 2013), mais ils sont plus faibles que ceux déterminés pour des vins rouges de Tempranillo (Martinez-Lapuente *et al.*, 2016). Cela pourrait être expliqué par une libération plus importante de PRAGs dans les vins botrytisés. D'autre part, nos résultats montrent que ce rapport est plus élevé dans les vins issus des moûts de début de pressurage (S1S : $0,77 \pm 0,0$; S3B : $0,82 \pm 0,0$) et qu'il diminue au cours du pressurage (S4S : $0,66 \pm 0,0$; S4B : $0,50 \pm 0,1$). Cette évolution pourrait être expliquée une libération plus importante d'AGPs au début du cycle de pressurage des raisins sains ou botrytisés. En effet, la composition chimique de la pulpe de la baie de raisin mature varie de la zone intermédiaire à la zone périphérique (Hardy, 1990), la concentration en AGPs étant plus élevée dans la zone intermédiaire de la baie (Vidal *et al.*, 2001).

PS totaux, Mannoprotéines (MPs), Polysaccharides Riches en Arabinose et Galactose (PRAGs) et Rhamnogalacturonane II (RG-II)

Les résultats d'analyses montrent des différences significatives entre la composition en polysaccharides des vins sains et botrytisés Chardonnay 2014 issus des moûts isolés au cours du cycle de pressurage.

Une évolution significative de la concentration en PS totaux des vins de base sains et botrytisés est observée au cours du pressurage. Cette concentration diminue dans les vins de S1 à S5 aussi bien pour les vins sains que pour les vins botrytisés (Figure 69). La concentration en PS totaux des vins botrytisés est 2 à 3 fois plus élevée que celle des vins sains, quel que soit la serre. La concentration est par exemple de $201 \pm 10,0$ mg/L pour le vin S1S alors que celle du vin S1B est de $541 \pm 11,0$ mg/L. Ces résultats sont dans les mêmes gammes de valeurs que les concentrations observées dans des vins blancs de base (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013; Esteruelas *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

La concentration en MPs, en RG-II, en PRAGs (respectivement Figure 70, Figure 71, Figure 72) des vins botrytisés est respectivement 2,1, 10,3 et 2,1 fois plus élevée que celle déterminée pour les vins sains. Les différences observées seraient dues à la contamination des raisins par *Botrytis cinerea* qui va sécréter un grand nombre d'enzymes pectinolytiques et modifier les parois cellulaires des baies. Ceci pourrait permettre une meilleure « extraction » des PS dans les moûts comme cela a été observée dans une précédente étude (Francioli *et al.*, 1999). Les PRAGs et le RG-II sont les PS principaux de la paroi cellulaire de la baie de raisin (Blouin et Gimberteau, 2000) et ils sont libérés et solubilisés facilement dans les moûts (Doco *et al.*, 1995). Ceci expliquerait une concentration plus élevée des PS dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains Chardonnay 2014.

Les MPs sont libérées au cours de la fermentation alcoolique (Waters *et al.*, 1994). Nos résultats montrent qu'au cours du pressurage leur concentration est la plus élevée dans le vin sain S1S ($100 \pm 4,5$ mg/L) et dans le vin botrytisé S1B ($212 \pm 5,0$ mg/L), et que celle-ci diminue dans les vins S5S ($74 \pm 2,5$ mg/L) et S3B ($159 \pm 9,5$ mg/L). Cela pourrait être lié à la composition initiale des moûts qui pourrait influencer le développement et le métabolisme levurien, et donc la concentration finale en MPs dans les vins (Guilloux-Bénatier *et al.*, 1995; Rosi et Giovani, 2003; O'Neill *et al.*, 2004).

La concentration en PRAGs des vins botrytisés (de $90 \pm 3,0$ à $189 \pm 2,0$ mg/L) est plus élevée que celle des vins sains Chardonnay 2014 (de $54 \pm 1,5$ à $93 \pm 5,5$ mg/L) ; celle-ci est dans la même gamme de valeurs que les concentrations déterminées dans des vins blancs espagnols (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013), et dans des vins rouges de Monastrell (Apolinar-Valiente *et al.*, 2013).

La concentration en RG-II des vins sains (de $9 \pm 1,0$ à $18 \pm 3,6$ mg/L) est plus faible que celle dans les vins botrytisés (de $41 \pm 3,1$ à $140 \pm 3,5$ mg/L), au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014. Le RG-II a été détecté dans tous les vins sains Chardonnay comme il a été détecté dans des vins de base rouges (Martínez-Lapuente *et al.*, 2016) mais pas dans des vins blancs de base espagnols (Martínez-Lapuente *et al.*, 2013). Cela pourrait être expliqué par des caractéristiques liées aux cépages étudiés ou par des stades de maturité différents des baies de raisins.

Ces résultats montrent un impact de *Botrytis cinerea* et du fractionnement au pressurage sur la concentration en PS totaux, en MPs, en PRAGs et en RG-II dans les vins. Des différences significatives sont observées entre la composition en PS des vins sains et botrytisés ; celles-ci peuvent être dues à la composition initiale des jus de raisin et également à l'activité pectinolytique (pectines méthylestérases et polygalacturonases) qui conduirait à la dégradation des PS des parois cellulaires des baies des raisins, et donc à la dégradation des PS des vins.

Composition en oses des OS

Les résultats d'analyses montrent des différences significatives entre la composition en oses des OS (% molaires) des vins sains et botrytisés Chardonnay 2014, et au cours du pressurage.

La teneur en rhamnose, en arabinose, en galactose et en acide glucuronique est plus élevée dans les vins botrytisés (Rha : de $4,3 \pm 0,8$ à $10,9 \pm 0,1$ % mol; Ara : de $11,1 \pm 0,8$ à $32,1 \pm 0,4$ % mol ; Gal : de $3,9 \pm 0,2$ à $5,4 \pm 1,3$ % mol ; A Glc : de $1,4 \pm 0,2$ à $1,7 \pm 0,0$ % mol) que celle déterminée dans les vins sains (Rha : de $0,8 \pm 0,1$ à $1,6 \pm 0,2$ % mol ; Ara : de $5,0 \pm 2,5$ à $8,6 \pm 0,8$ % mol ; Gal : de $2,8 \pm 0,7$ à $4,3 \pm 0,6$ % mol ; A Glc : de $0,9 \pm 0,3$ à $1,1 \pm 0,2$ % mol), quel que soit la serre. Ces oses proviennent des parois pecto-cellulosiques des cellules de la baie de raisin (PRAGs et hémicelluloses). Ces différences peuvent être expliquées par la contamination des baies de raisin par *Botrytis cinerea*, et la capacité du champignon à libérer dans la baie des enzymes telles que des cellulases, des hémicellulases et des pectinases (Kars et van Kan, 2007). Ces enzymes peuvent hydrolyser des substances pectiques notamment pour disposer de sources carbonées assimilables pour la croissance du champignon (Williamson *et al.*, 2007). La présence d'acide glucuronique et de 4-OMeA Glc dans les vins indique la présence de traces d'hémicelluloses issues du raisin qui seraient solubilisées à partir des parois cellulaires de la baie (Vidal *et al.*, 2003). Nos résultats montrent que la teneur en acide glucuronique est plus élevée dans les vins botrytisés (de $1,4 \pm 0,2$ à $1,7 \pm 0,0$ % mol) que celle déterminée dans les vins sains (de $0,9 \pm 0,3$ à $1,1 \pm 0,2$ % mol), alors que la teneur en 4-OMeA Glc est la même dans les vins sains et les vins botrytisés ; leurs teneurs sont comprises respectivement entre $2,7 \pm 1,5$ et $4,5 \pm 0,7$ % mol et entre $1,8 \pm 0,1$ et $3,8 \pm 0,0$ % mol pour les vins sains et les vins botrytisés de S1 à S5.

Le mannose et le glucose sont libérés dans les vins à partir des MPs des levures. Leur teneur dans les vins sains est plus élevée (Man : de $16,0 \pm 0,8$ à $19,0 \pm 1,1$ % mol ; Glc : de $29,8 \pm 0,9$ à $42,5 \pm 1,3$ % mol) que la teneur déterminée dans les vins botrytisés (Man : de $9,4 \pm 0,3$ à $18,5 \pm 0,3$ % mol ; Glc : de $18,2 \pm 0,2$ à $36,4 \pm 2,3$ % mol). La présence de xylitol et de xylose dans les OS est originale des dégradations des PS des parois cellulaires de la baie des raisins (Carpita et Gibeaut, 1993; Doco *et al.*, 2003; Ducasse *et al.*, 2010; Ducasse *et al.*, 2011). Leur teneur est plus élevée dans les vins sains (Xylitol : de $2,4 \pm 0,3$ à $3,9 \pm 0,5$ % mol ; Xyl : de $9,8 \pm 0,4$ à $13,7 \pm 1,8$ % mol) que dans les vins botrytisés (Xylitol : de $0,9 \pm 0,1$ à $2,8 \pm 0,5$ % mol ; Xyl : de $6,1 \pm 0,0$ à $11,2 \pm 0,0$ % mol). Ces deux oses sont en faibles concentrations dans les OS des vins rouges de Merlot et Carignan (Ducasse *et al.*, 2010; Quijada Morín *et al.*, 2014) mais ils n'ont pas été détectés dans des vins rouges de Tempranillo et un vin blanc de Chardonnay, dans de précédentes études (Bordiga *et al.*, 2012; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014).

Les rapports Ara/Gal, Rha/A Gal et (Ara+Gal)/Rha

Le rapport Ara/Gal (Figure 74) est caractéristique des PRAGs des vins (Doco *et al.*, 2003; Vidal *et al.*, 2003; Ducasse *et al.*, 2010; Bordiga *et al.*, 2012) et il peut être utilisé pour caractériser des OS dans les vins (Ducasse *et al.*, 2010 ; Ducasse *et al.*, 2011). Il est plus élevé dans les vins botrytisés (de $2,02 \pm 0,6$ à $6,75 \pm 0,6$) par rapport aux vins sains (de $1,18 \pm 0,2$ à $2,64 \pm 0,6$). Au cours du pressurage, ce rapport diminue de 64% du vin S1B au vin S5B ; celui-ci est le plus élevé dans le vin S2S ($2,64 \pm 0,6$) et est le plus faible dans le vin S3S ($1,18 \pm 0,2$). Un rapport Ara/Gal élevé dans les vins correspondrait à une libération importante d'OS riches en arabinose provenant des parois pecto-cellulosiques de la baie de raisin (Vidal *et al.*, 2003). Ces résultats suggèrent que les OS présents dans les vins botrytisés sont plus riches en arabinose que ceux des vins sains, ou que des OS riches en arabinose sont présents en quantité plus importante dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains Chardonnay 2014. De plus, ce rapport est 3 fois plus élevé dans le vin botrytisé S1B par rapport au vin sain S1S. Ces résultats sont corrélés avec la contamination par *Botrytis cinerea* qui peut libérer des enzymes pecto-cellulosiques et modifier la structure des PRAGs dans les raisins (Kars et van Kan, 2007).

Le rapport Rha/A Gal des vins sains (Figure 75) est plus faible (de $0,05 \pm 0,0$ à $0,16 \pm 0,0$) que celui des vins botrytisés (de $0,57 \pm 0,1$ à $0,80 \pm 0,0$). Le rapport des vins botrytisés diminue de 28% du vin S1B au vin S5B ; celui-ci diminue de 58% du vin S1S au vin S3S et augmente ensuite de 78% du vin S4S ($0,09 \pm 0,0$) au vin S5S ($1,16 \pm 0,0$). Ces résultats montrent la présence majeure de structures homogalacturonanes par rapport aux structures rhamnogalacturonanes dans les OS des vins sains et botrytisés (Ducasse *et al.*, 2010; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Apolinar-Valiente *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

Le rapport (Ara+Gal)/Rha des vins sains (Figure 76) est plus élevé que celui des vins botrytisés ; par exemple, ce rapport est 3,7 fois plus élevé dans le vin S3S ($11,32 \pm 0,8$) que celui du vin S3B ($3,06 \pm 0,0$). Au cours du pressurage, ce rapport augmente de 21% dans les vins botrytisés ; celui-ci est le plus élevé dans le vin S3S et est le plus faible dans le vin S5S ($5,73 \pm 0,3$). Le rapport (Ara+Gal)/Rha permet d'estimer la relation entre des chaînes latérales substituant les zones rhamnogalacturonanes. Nos résultats indiquent que les OS des vins sains contiennent une quantité plus importante, par rapport aux OS des vins botrytisés, de structures provenant des chaînes latérales des pectines, ou des structures ressemblant à des structures rhamnogalacturonanes portant des chaînes latérales neutres riches en arabinanes (Ducasse *et al.*, 2010; Apolinar-Valiente *et al.*, 2014; Apolinar-Valiente *et al.*, 2015; Martinez-Lapuente *et al.*, 2016).

3. Conclusions

L'impact d'une infection par *Botrytis cinerea* sur la composition du moût a été évalué par la mesure de différents paramètres œnologiques. Cette composition évolue au cours du cycle de pressurage. Un pH plus élevé et une acidité plus faible ont été observés dans les moûts botrytisés par rapport à ceux des moûts sains. Le développement de la pourriture grise sur les baies de raisin conduit généralement à une dégradation des principaux acides organiques du raisin (acide tartrique et acide malique), et donc à une concentration faible de ces acides dans les moûts, un pH élevé et une faible acidité totale. L'acide gluconique qui correspond à un métabolite secondaire de *Botrytis cinerea*, peut être utilisé comme un marqueur de la contamination fongique, et le niveau d'infection peut ainsi être estimé. Le moût sain S1 contient par exemple 81,4 fois moins d'acide gluconique que le moût botrytisé S1. Au cours du pressurage, la concentration en acide gluconique est plus élevée dans les moûts et les vins botrytisés par rapport aux moûts et aux vins sains ; cette concentration diminue au cours du pressurage. Tandis que la concentration en calcium est la même dans les moûts sains et botrytisés, les concentrations en acide tartrique, en acide malique et également en azote assimilable des moûts sains de début de pressurage (moût S1) sont plus élevées que celles déterminées dans les moûts botrytisés correspondants. Cette tendance est inversée dans les moûts de fin de pressurage (S3, S4, S5). A partir de ces données, nous observons un impact de la pourriture grise sur la qualité des moûts au cours du fractionnement au pressurage.

Nos résultats montrent également une diminution de l'activité protéasique des vins de base au cours du pressurage et une activité protéasique dans les vins botrytisés plus élevée par rapport aux vins sains. Il est important de noter qu'une relation entre l'activité protéasique et la concentration en acide gluconique dans les vins botrytisés ($R^2=0,782$) a été observée. La composition en protéines est susceptible d'être affectée par cette activité protéasique. On sait qu'une contamination du raisin par *Botrytis cinerea* entraîne la sécrétion d'un grand nombre d'enzymes dans les baies de raisin (Van Kan, 2006; Choquer *et al.*, 2007; Espino *et al.*, 2010; Billon *et al.*, 2011) qui vont dégrader la cuticule et les parois cellulaires des raisins. Nos résultats pourraient être expliqués par la composition initiale des jus de raisin et également à l'activité pectinolytique de *Botrytis cinerea* (pectines méthylestérases et polygalacturonases) qui est extrait de façon plus importante au début du pressurage des raisins.

En effet, des changements de teneur et de composition en protéines des moûts et des vins sont observés lors d'une contamination des raisins par *Botrytis cinerea* et au cours du pressurage de ces raisins, en comparaison avec les raisins sains. Des protéines peuvent être dégradées partiellement ou totalement par des protéases fongiques, tandis que d'autres sont synthétisées, soit

par *Botrytis cinerea* au cours de l'infection, soit par la baie de raisin comme mécanisme de défense de la plante (Derckel *et al.*, 1999).

La moussabilité d'un vin dépend de la concentration en protéines (Abdallah *et al.*, 2010; Brissonnet and Maujean, 1993; Cilindre *et al.*, 2007, 2008; Hong *et al.*, 2017; Maujean *et al.*, 1990; Marchal *et al.*, 1996, 2001, 2006) et également de la teneur et la composition en polysaccharides (Abdallah *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2011; Martínez Lapuente *et al.*, 2013, 2015; Girbau *et al.*, 2002). Afin de compléter l'étude menée sur l'impact d'une contamination des raisins par *Botrytis cinerea* et d'un fractionnement au pressurage sur la composition protéique des vins, l'identification des protéines des vins sains et botrytisés a été réalisée par LC-MS/MS. Ces résultats nous permettront de mieux comprendre les modifications de la composition protéique des vins étudiés en relation avec les propriétés moussantes du Champagne (Marchal *et al.*, 2001; Marchal *et al.*, 2006; Cilindre *et al.*, 2007; Cilindre *et al.*, 2008). De plus, il serait intéressant d'étudier l'évolution de la composition en protéines, en PS et en OS au cours de la champagnisation des vins de base sains et botrytisés, et d'évaluer les propriétés moussantes de ces vins.

Les modifications induites par *Botrytis cinerea* sur la composition en PS et en OS des vins issus des moûts, au cours du pressurage, ont été étudiées. Les résultats montrent des différences significatives entre la composition en PS et OS des vins de Chardonnay sains et botrytisés, ainsi qu'entre les vins sains ou les vins botrytisés issus de différents moûts isolés au cours du pressurage.

D'une manière générale, la concentration en PS des vins diminue au cours du pressurage aussi bien pour les vins sains que pour les vins botrytisés.

Des enzymes pectinolytiques sécrétées par *Botrytis cinerea* peuvent dégrader partiellement les parois cellulaires des raisins et permettre une meilleure « extraction » des PS (PRAGS, RG-II) dans les moûts comme cela a été observé dans une étude précédente (Francioli *et al.*, 1999). Par conséquent, la concentration en PRAGs et en RG-II des vins botrytisés est plus élevée que celle des vins sains. De plus, comme nous l'avons vu, la concentration en MPs est également affectée par une contamination par *Botrytis cinerea*. Sa concentration est par exemple environ 2 fois plus élevée dans le vin botrytisé S1B que celle dans le vin sain S1S.

Quel que soit la serre, la concentration en oses constitutifs des PS (2-O-CH₃-fucose, rhamnose, fucose, 2-O-2-O-CH₃-xylose, arabinose, apiose, xylose, mannose, galactose, glucose) et des OS (arabinose, rhamnose, galactose et acide glucuronique) est plus élevée dans les vins botrytisés par rapport aux vins sains Chardonnay 2014.

Au cours du pressurage, nous observons une libération de PS riches en arabinose tels que les AGPs qui seraient plus particulièrement extraits en début de pressurage des raisins sains et botrytisés. Nos résultats suggèrent que des OS des vins botrytisés sont plus riches en arabinose et

en structures homogalacturonanes par rapport à ceux des vins sains. Cependant, les OS des vins sains contiennent une quantité plus importante d'oses provenant des chaînes latérales des PS de type RG par rapport aux oses des vins botrytisés.

Des différences significatives sont observées entre la composition en PS et OS des vins sains et botrytisés celles-ci peuvent être dues à la composition initiale des jus de raisin et également à l'activité pectinolytique (pectines méthylestérases et polygalacturonases) qui conduirait à la dégradation des PS des parois cellulaires des baies des raisins, et donc à la dégradation des PS des vins.

Des corrélations entre la concentration des macromolécules des vins (protéines et PS) (Tableau 50 et Tableau 51) et les paramètres des moûts ont été observées. Nous observons que la teneur en protéines totales des vins botrytisés est fortement corrélée avec la concentration en acide malique des moûts. La concentration en PS totaux des vins sains est fortement corrélée avec le pH, avec l'acidité totale et avec la concentration en acide malique ; celle des vins botrytisés est fortement corrélée avec la concentration en acide gluconique, en azote assimilable des moûts au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014.

Les résultats de l'essai mené lors de la vendange 2014 mettent en évidence les modifications importantes, liées au fractionnement au pressurage et à la présence de la pourriture grise, des paramètres œnologiques, de la composition et la concentration en protéines, en PS et en OS des moûts et des vins de base de Chardonnay 2014. La poursuite de l'étude permettra de compléter les connaissances concernant l'impact de *Botrytis cinerea* sur la qualité des vins de Champagne et de gérer la qualité sanitaire de la vendange dans le cadre d'un fractionnement au pressurage des jus de raisin.

Tableau 56. Evolution des caractéristiques œnologiques des moûts et vins au cours du pressurage des raisins Chardonnay 2014

	Raisins sains		Raisins botrytisés	
	Moûts	Vins	Moûts	Vins
pH	↗	↗	↘	↘
Acidité totale (g/L H ₂ SO ₄)	↘	↘	↗	↗
Acide malique (g/L)	↘	↘	↗	↗
Acide tartrique (g/L)	↘	↘	↗	↗
Acide gluconique (mg/L)	stable	stable	↘	↘
Acidité volatile (g/L H ₂ SO ₄)	-	↗	-	↘
Sucres (g/L)	stable	↗	stable	↘
Azote assimilable (mg/L)	stable	-	↗	-
Calcium (mg/L)	↘	↘	↘	↘
Potassium (mg/L)	↘	↗	↘	↘
Protéines totales (mg/L éq ASB)	-	S1 ↗ S3 ↘ S5	-	S1 ↗ S3 ↘ S5
Protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1S)	-	S1 ↗ S2 ↘ S5	-	S1 ↗ S3 ↘ S5
Activité protéasique spécifique (U/mg)	-	↘	-	↘
Polysaccharides totaux (mg/L)	-	↘	-	↘
MPs (mg/L)	-	↘	-	↘
PRAGs (mg/L)	-	↘	-	↘
RG-II (mg/L)	-	↘	-	↘
Ara/Gal des PS	-	↘	-	↘
Ara/Gal des OS	-	S1 ↘ S3 ↗ S5	-	↘
Rha/A Gal des OS	-	S1 ↘ S3 ↗ S5	-	↘
(Ara+Gal)/Rha des OS	-	S1 ↗ S3 ↘ S5	-	↗

CHAPITRE VI

**COMPARAISON DE L'IMPACT DU FRACTIONNEMENT
AU PRESSURAGE SUR LA COMPOSITION DES
MOÛTS ET DES VINS DES MILLÉSIMES
2013, 2014, 2015**

Ce chapitre vise à comparer et à étudier, dans le contexte d'un fractionnement au pressurage, l'effet des cépages, des millésimes et des types de pressoirs sur la composition des moûts et des vins de base. Une partie s'intéresse à la comparaison de la composition des moûts et des vins de base de Chardonnay de deux millésimes (2014 et 2015) lors d'un pressurage avec un pressoir de laboratoire. Une deuxième partie montre l'effet des millésimes et des types de pressoirs (2013, pressurage avec pressoir industriel, et 2015, pressurage avec pressoir de laboratoire) sur la composition des moûts et des vins de base de Pinot meunier. Cette étude permettra également de comparer la composition des moûts et des vins issus de deux cépages différents pour deux millésimes : Pinot meunier 2013, pressurage avec pressoir industriel et Chardonnay 2014, pressurage avec pressoir de laboratoire.

1. Les moûts et vins issus de raisins sains Chardonnay de deux millésimes : 2014 et 2015

1.1. Les moûts

1.1.1. Comparaison de la composition des moûts

La comparaison de la composition des moûts de Chardonnay des millésimes 2014 et 2015 est présentée dans la Figure 77. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres dans les moûts quel que soit le millésime.

Nos résultats montrent que l'acidité totale des moûts du millésime 2014 est équivalente à celle du millésime 2015 et diminue au cours du pressurage des raisins. Par exemple, l'acidité totale du moût S1 des millésimes 2014 et 2015 est respectivement de 7,1 et 7,4 g/L H₂SO₄, et celle du moût S5 est respectivement de 4,8 et 5,1 g/L H₂SO₄.

Le pH des moûts du millésime 2014 est plus élevé que celui des moûts du millésime 2015 et sa valeur augmente respectivement de 3,06 à 3,33 pour le millésime 2014 et de 2,81 à 3,02 pour le millésime 2015, au cours du pressurage, du moût S1 au moût S5.

De la même façon, la concentration en acide malique, en acide tartrique, en sucres, en azote assimilable, en potassium et en calcium est plus élevée dans les moûts du millésime 2014 par rapport au millésime 2015. Par exemple, la concentration en sucres des moûts S1 à S5 des millésimes 2014 et 2015 est respectivement comprise entre 194,7 et 204,2 g/L et entre 167,8 et 175,3 g/L. Au

contraire, la concentration en acide gluconique des moûts du millésime 2015 est plus élevée que celle du millésime 2014, quelle que soit la serre. Pour les moûts S1, les concentrations en acide gluconique sont les suivantes : millésime 2014 : 5 mg/L, et millésime 2015 : 6 mg/L, et pour les moûts S5 : millésime 2014 : 4 mg/L, et millésime 2015 : 18 mg/L. Cependant, la concentration faible en acide gluconique des deux millésimes montre que les raisins sont « sains » (qualité sanitaire de la vendange).

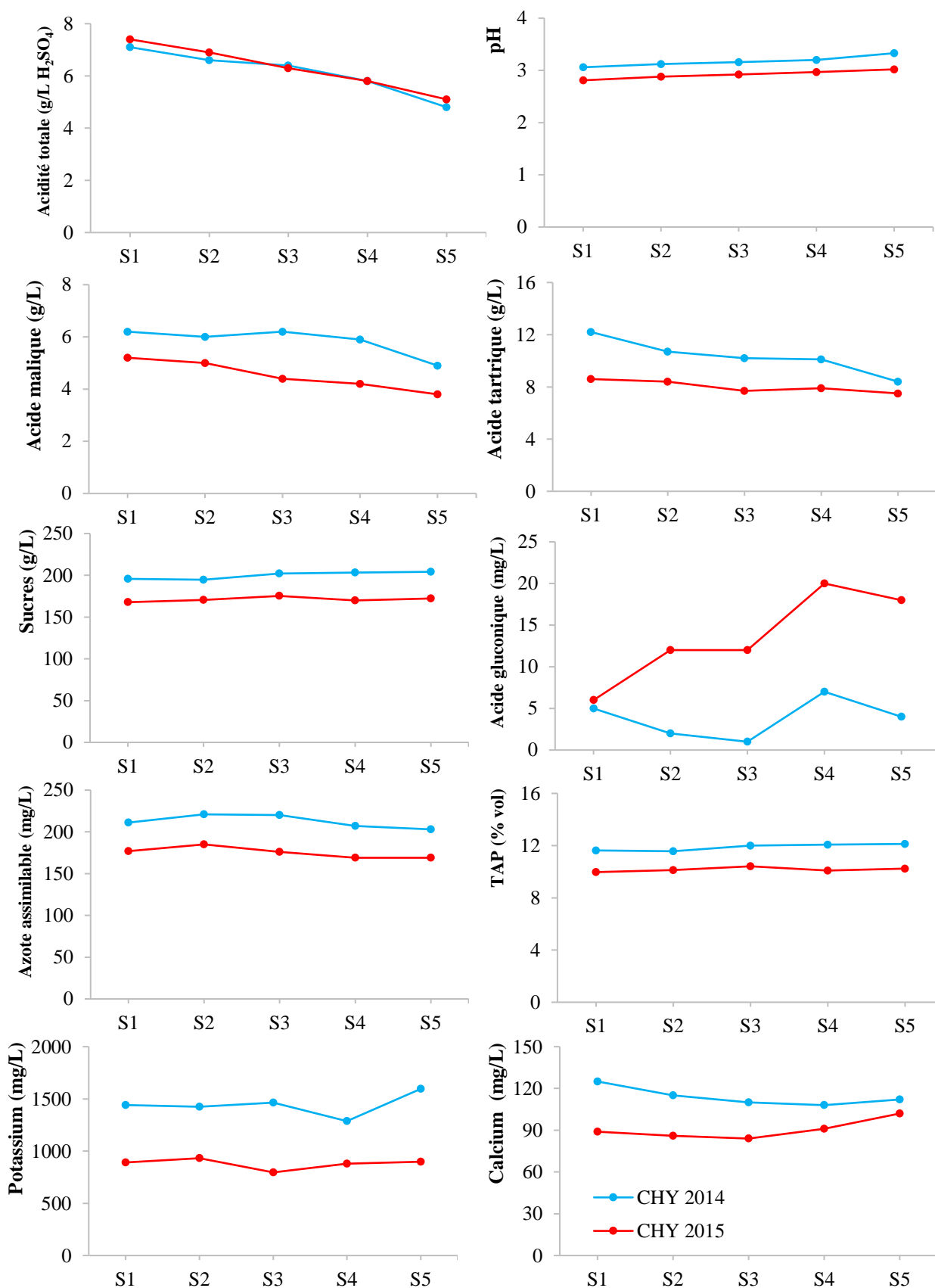


Figure 77. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

1.1.2. Cinétiques fermentaires

La durée des fermentations alcooliques des moûts de Chardonnay des millésimes 2014 et 2015 est présentée dans la Figure 78.

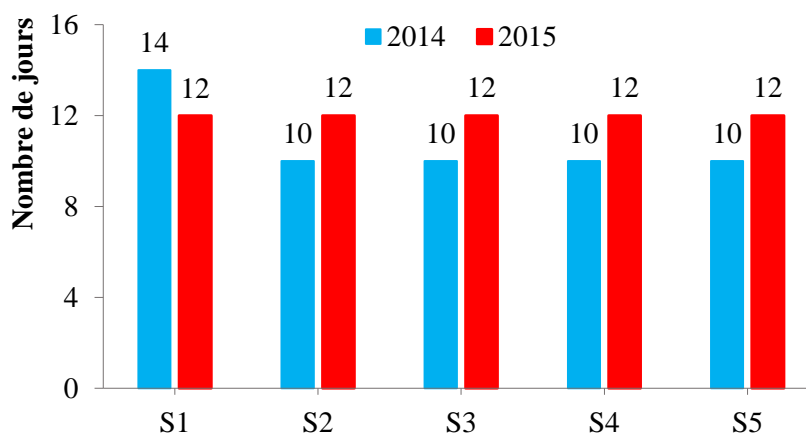


Figure 78. Comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts issus du fractionnement au pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

La comparaison des durées des fermentations alcooliques des moûts des millésimes 2014 et 2015 montre que celles des moûts du millésime 2015 sont de 2 jours supérieures à celles du millésime 2014 du vin S2 au vin S5, tandis que la durée de fermentation alcoolique du moût S1 du millésime 2014 est de 2 jours supérieure à celle du moût S1 du millésime 2015 ; la durée de FA est de 10 à 14 jours pour les moûts du millésime 2014 et de 12 jours pour les moûts du millésime 2015.

1.2. Comparaison de la composition des vins

Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de Chardonnay des millésimes 2014 et 2015 suivent les mêmes évolutions que ceux déterminés pour les moûts (Figure 79 et Figure 80). D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres des vins quel que soit le millésime.

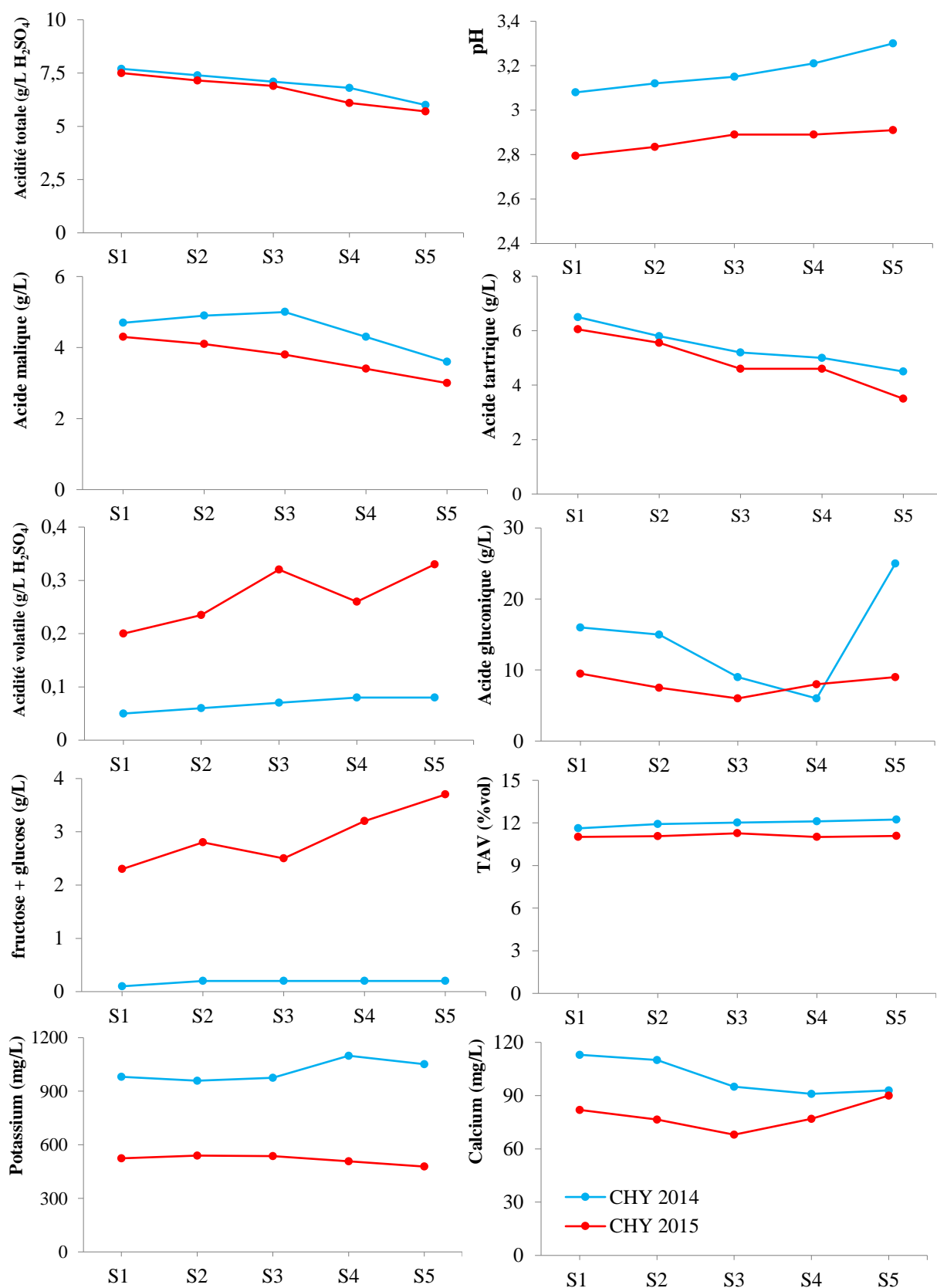


Figure 79. Comparaison des paramètres œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

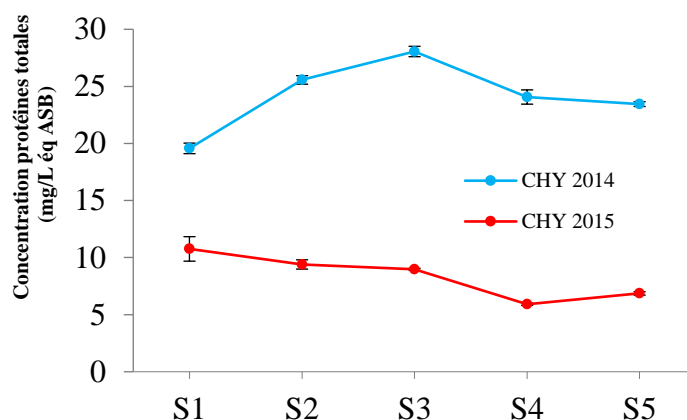


Figure 80. Evolution de la concentration en protéines totales (méthode de Bradford) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Chardonnay des millésimes 2014 et 2015. S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Les concentrations en acide malique, en acide tartrique, en sucres, en potassium, en calcium et le pH sont plus élevées dans les vins du millésime 2014 par rapport à ceux du millésime 2015. Par exemple, la concentration en acide malique des vins S1 à S5 des millésimes 2014 et 2015 est respectivement comprise entre 3,6 et 5,0 g/L et entre 3,0 et 4,3 g/L.

A l'inverse, les concentrations en acide gluconique (excepté pour le vin S4), en sucres, et l'acidité volatile, sont plus élevées dans les vins du millésime 2015 par rapport à celles du millésime 2014. Cette différence est plus marquée dans le vin S5 ; par exemple, l'acidité volatile du vin S5 du millésime 2015 (0,33 g/L H₂SO₄) est 5 fois plus élevée que celle du millésime 2014 (0,08 g/L H₂SO₄).

Il est important de noter que la concentration en protéines totales (déterminée par la méthode de Bradford) des vins du millésime 2015 est plus élevée que celle du millésime 2014 (Figure 80). Leurs valeurs sont respectivement de 19,6 ± 0,46 à 28,1 ± 0,45 mg/L éq ASB dans les vins du millésime 2014, et de 5,9 ± 0,10 à 10,8 ± 1,07 mg/L équivalent ASB dans les vins du millésime 2015.

1.3. Discussion

Les résultats présentés dans la Figure 77 montrent que les valeurs de la plupart des paramètres œnologiques mesurés : pH, concentrations en acide tartrique, acide malique, sucres, azote assimilable, potassium et calcium, sont plus élevées dans les moûts du millésime 2014 par rapport au millésime 2015. Nous constatons donc un effet millésime sur la composition des moûts pour ces deux fractionnements au pressurage. Cela pourrait être expliqué par l'impact des conditions climatiques (Figure 81 et Figure 82) ou la différence de stade de maturité au moment du prélèvement des raisins.

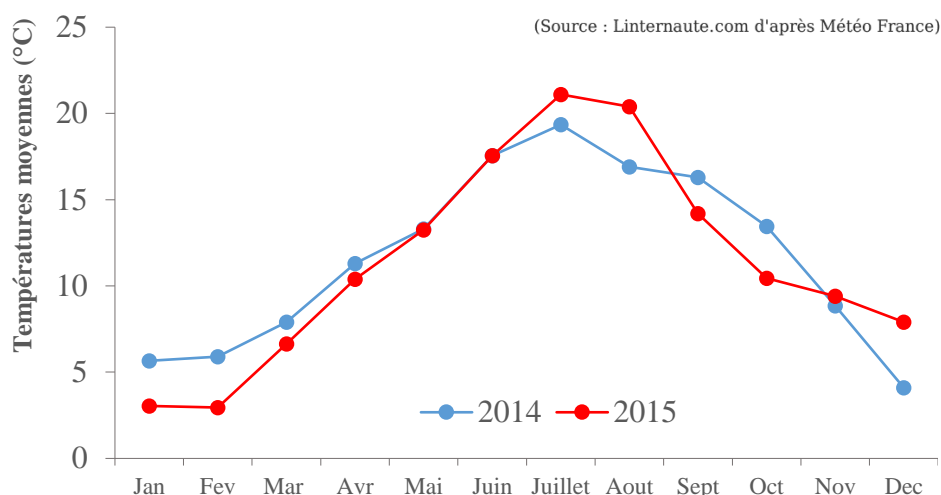


Figure 81. Températures moyennes en Champagne-Ardenne en 2014 et 2015

La composition des raisins dépend de différents paramètres tels que le climat, le sol, le cépage et d'autres paramètres agronomiques, qui déterminent ensemble le terroir d'une région viticole (Zsófi *et al.*, 2009). La température influence la migration des éléments nutritifs pendant la maturation du raisin ; le volume cellulaire de la baie va augmenter à une température optimale (Penso *et al.*, 2014). En 2015, une période de sécheresse exceptionnelle a été enregistrée : après un mois d'avril chaotique, une certaine sécheresse s'est installée à partir de la mi-mai et a perduré jusqu'au milieu du mois d'août (<http://maisons-Champagne.com>). Le cycle de croissance de la vigne étant généralement calculé de début avril à la fin septembre et sur la période mars-août, l'ensoleillement en 2015 est exceptionnel, et supérieure à celui de 2014 (<http://maisons-Champagne.com>) (Figure 82). Ce phénomène pourrait avoir causé des « interférences » dans la migration des éléments nutritifs dans les baies de raisin, et serait responsable d'une diminution des acides pour le millésime 2015 par rapport au millésime 2014. En effet, des raisins plus exposés au soleil sont plus riches en sucres et moins en acides, par une diminution de la concentration de ces acides dans la baie de raisin, en lien avec la photosynthèse (Spayd *et al.*, 2002).

De plus, nos résultats montrent que la concentration en sucres mais également en acide gluconique du millésime 2015 est plus élevée que celle du millésime 2014. Cela pourrait être expliqué par la date du prélèvement des raisins Chardonnay en 2015, les pluies ayant favorisé le développement de champignons (*Botrytis cinerea*, ...), et le grossissement des baies ayant entraîné la diminution de la concentration en sucres dans les baies de raisin.

La différence de durée de fermentation des millésimes 2014 et 2015 pourrait être expliquée par la différence de composition initiale des moûts.

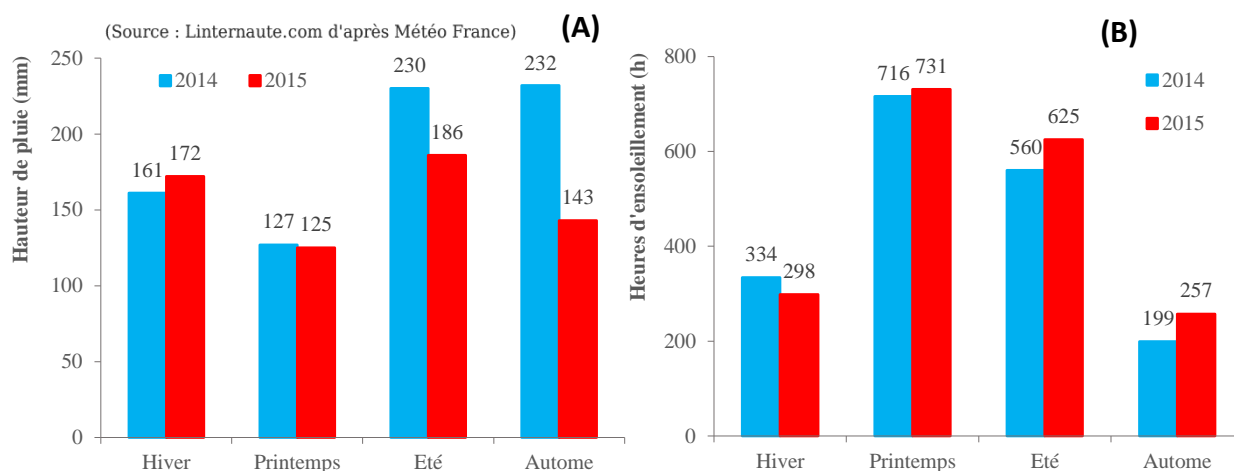


Figure 82. Quantité de précipitations et temps d’ensoleillement en Champagne-Ardenne en 2014 et 2015. **(A)** Hauteur de pluie ; **(B)** Heures d’ensoleillement

L’évolution des paramètres œnologiques déterminés pour les vins des millésimes 2014 et 2015 est la même que celle observée pour les moûts, au cours du pressurage. Une acidité volatile plus élevée, des concentrations plus faibles en acide malique, en acide tartrique, en potassium, en calcium et une acidité totale plus faible, sont observées dans les vins du millésime 2015 par rapport aux vins du millésime 2014.

2. Les moûts et vins de Pinot meunier de deux millésimes : 2013 et 2015

2.1. Comparaison de la composition des moûts

La comparaison de la composition des moûts de Pinot meunier des millésimes 2013 (pressoir industriel) et 2015 (pressoir de laboratoire) est présentée dans la Figure 83. D’une manière générale, nous observons les mêmes tendances d’évolution pour les différents paramètres dans les moûts quel que soit le millésime et le type de pressoir.

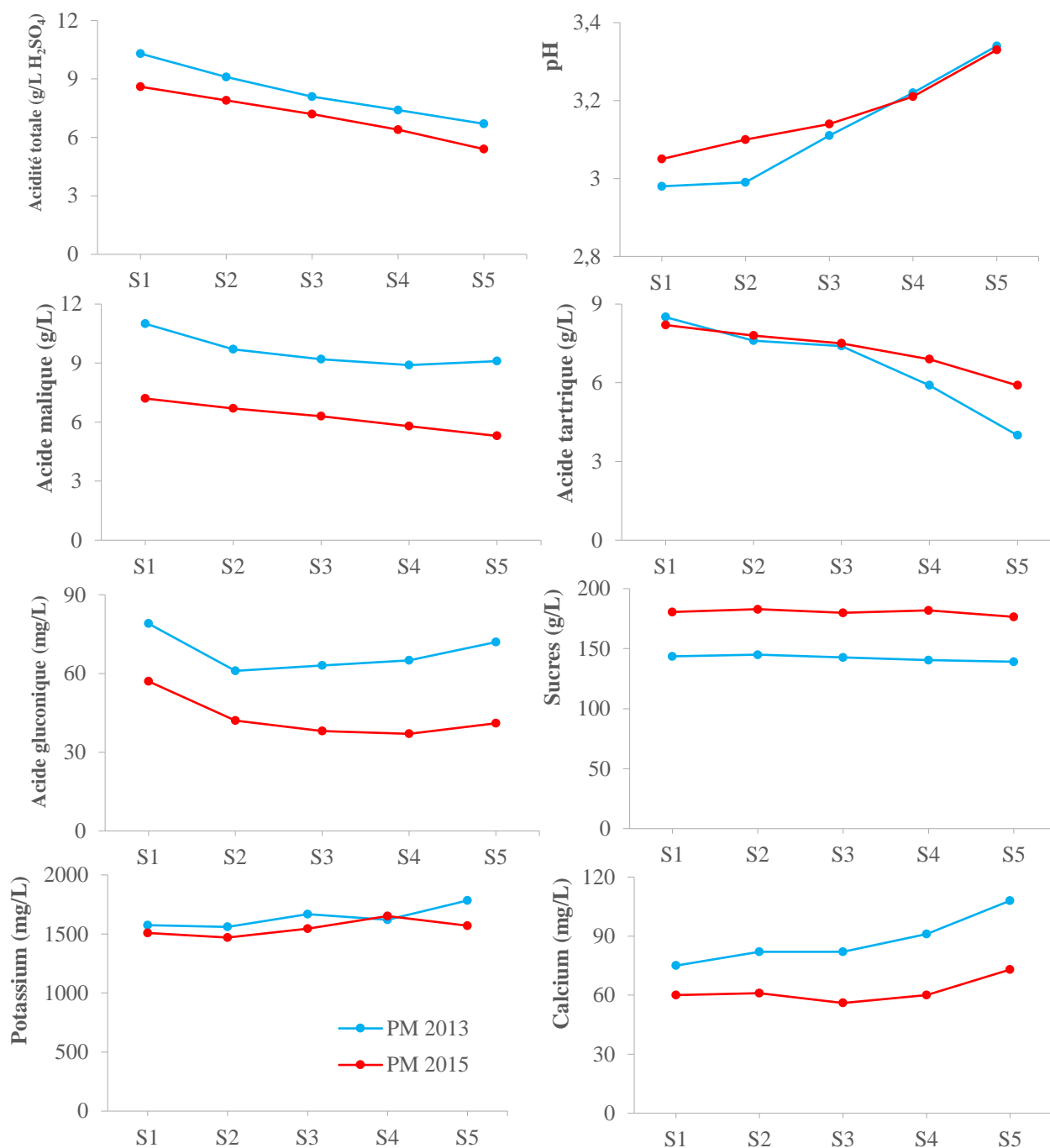


Figure 83. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins Pinot meunier des millésimes 2013 (pressoir industriel) et 2015 (pressoir de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

L'acidité totale des moûts du millésime 2013 est plus élevée que celle du millésime 2015 et diminue au cours du pressurage des raisins. Par exemple, l'acidité totale du moût S1 est respectivement de 10,3 g/L H₂SO₄ pour le millésime 2013 et de 8,6 g/L H₂SO₄ pour le millésime 2015 ; pour le moût S5, elle est respectivement de 6,7 g/L H₂SO₄ pour le millésime 2013 et de 5,4 g/L H₂SO₄ pour le millésime 2015.

Les concentrations en acide malique, en acide gluconique et en calcium des moûts du millésime 2013 sont plus élevées que celles du millésime 2015. A l'inverse, la concentration en sucres des moûts du millésime 2015 est plus élevée que celle du millésime 2013. Leur concentration est stable durant le pressurage : entre 139,1 et 145,0 g/L pour les moûts du millésime 2013, et entre 176,5 et 182,9 g/L pour les moûts du millésime 2015.

La concentration en potassium des deux millésimes 2013 et 2015 est stable au cours du pressurage. Sa concentration pour les moûts de S1 à S5 est respectivement comprise entre 1574 et 1784 mg/L pour le millésime 2013 et entre 1508 et 1570 mg/L pour le millésime 2015.

Alors que le pH des moûts S1 et S2 du millésime 2013 est plus faible que le pH des moûts S1 et S2 du millésime 2015, la concentration en acide tartrique des moûts de fin du pressurage S4 et S5 du millésime 2015 est plus élevée que celle du millésime 2013. Par exemple, dans le moût S5, sa teneur est de 4 g/L pour le millésime 2013 et de 5,9 g/L pour le millésime 2015.

2.2. Comparaison de la composition des vins

Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de Pinot meunier des millésimes 2013 et 2015 suivent les mêmes évolutions que ceux déterminés pour les moûts et sont présentés dans la Figure 84. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres des vins quel que soit le millésime et le type de pressoir.

Nos résultats montrent que les concentrations en acide malique et en acide tartrique, ainsi que l'acidité totale des vins du millésime 2013 sont plus élevées que celles du millésime 2015. Leur valeur diminue au cours du pressurage. Le pH des vins de S1 à S5 est respectivement compris entre 2,87 et 3,29 pour le millésime 2013 et entre 2,82 et 3,16 pour le millésime 2015.

La concentration en calcium et en potassium est plus élevée dans les vins du millésime 2013 que celle du millésime 2015. A l'inverse, le TAV des vins du millésime 2015 est plus élevé que celui du millésime 2013. Sa valeur pour les vins de S1 à S5 est respectivement comprise entre 7,89 et 8,31% vol pour le millésime 2013 et entre 10,96 et 11,25% vol pour le millésime 2015.

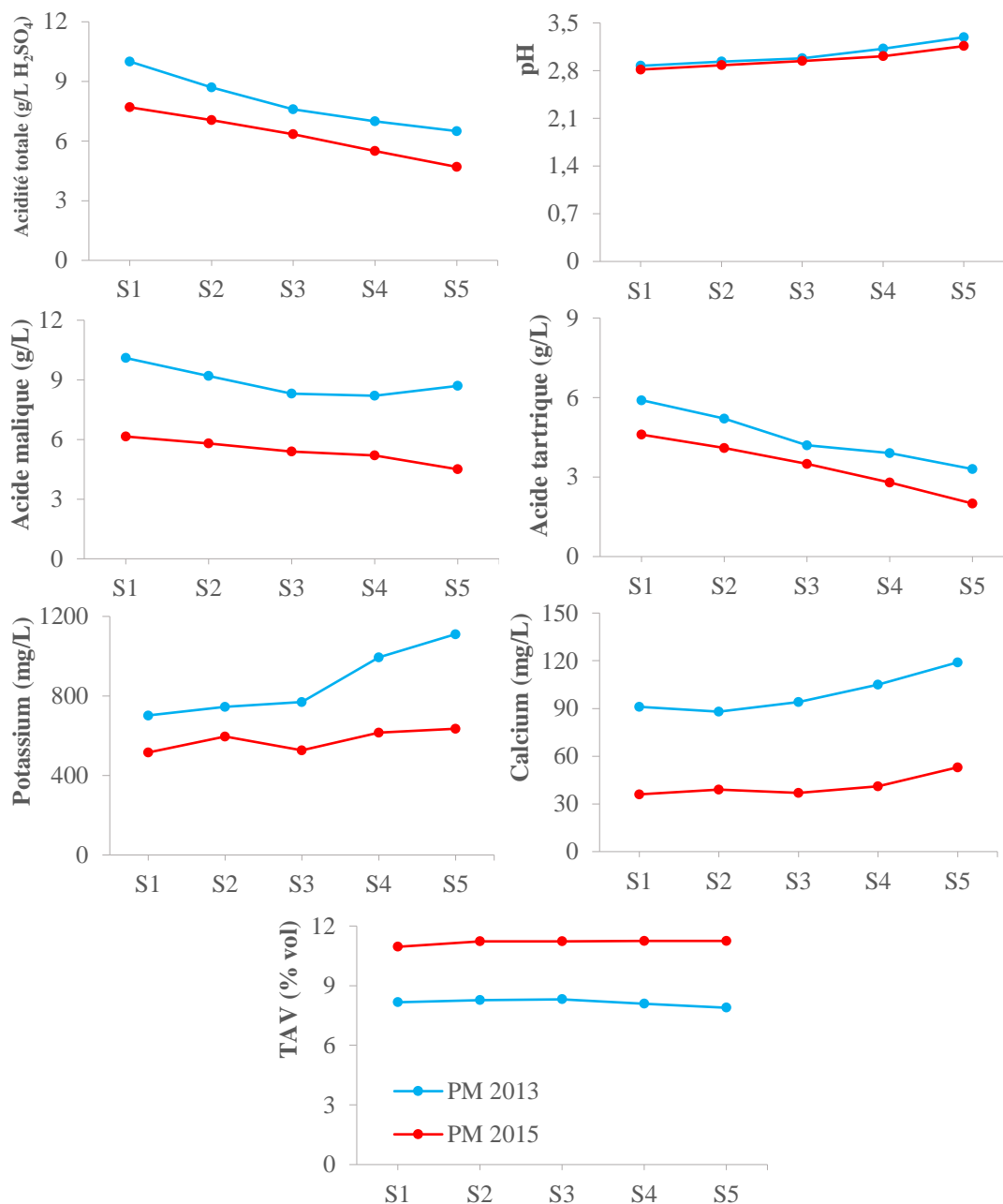


Figure 84. Comparaison des paramètres œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier des millésimes 2013 (presseur industriel) et 2015 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

2.3. Discussion

L'acidité totale, les concentrations en acide malique, en acide gluconique et également en calcium des moûts du millésime 2013 sont plus élevées que celles du millésime 2015. A l'inverse, la concentration en sucres est plus élevée dans les moûts du millésime 2015 que celle du millésime 2013. Cela pourrait être expliqué par la différence de stade de maturité au moment du prélèvement des raisins des deux millésimes, et leur état sanitaire. De plus, les conditions climatiques (Figure 85 et Figure 86) peuvent influencer la concentration de ces composés. En effet, des raisins plus exposés au soleil sont plus riches en sucres et moins en acides, par une diminution de la concentration de ces acides dans la baie de raisin, en lien avec la photosynthèse (Spayd *et al.*, 2002).

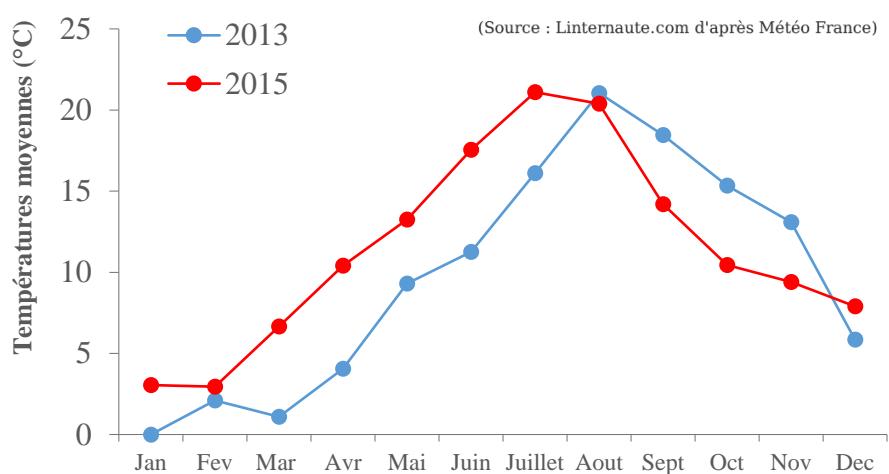


Figure 85. Températures moyennes en Champagne-Ardenne en 2013 et 2015

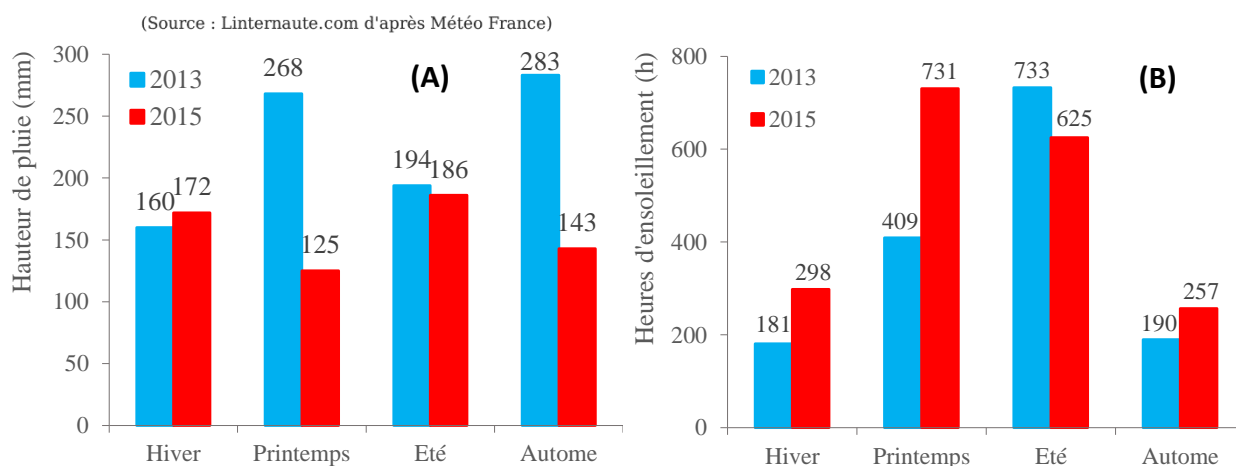


Figure 86. Quantité de précipitations et temps d'ensoleillement en Champagne-Ardenne en 2013 et 2015. (A) Hauteur de pluie ; (B) Heures d'ensoleillement

Les tendances d'évolution de la composition des moûts au cours du pressurage du millésime 2013 sont les mêmes que celles du millésime 2015. Cela indique qu'il n'y a pas eu d'impact particulier, dans le cadre de ces essais, ni du type de pressoir (pressoir de laboratoire ou pressoir industriel) ni du millésime sur l'évolution des paramètres œnologiques déterminés pour les vins et les moûts, au cours du pressurage. Cette évolution est la même pour les moûts et les vins, au cours du pressurage.

Une acidité totale plus élevée, des concentrations plus élevées en acide malique, en acide tartrique, en potassium et en calcium sont observées pour les vins du millésime 2013 par rapport aux vins du millésime 2015.

3. Comparaison de la composition des moûts et des vins issus de raisins sains de deux millésimes : 2013, pressurage avec pressoir industriel, et 2014, pressurage avec pressoir de laboratoire

3.1. Comparaison de la composition des moûts

A partir des résultats obtenus pour les millésimes 2013 et 2014, la composition des moûts de Pinot meunier 2013 (PM 2013) et des moûts de Chardonnay 2014 (CHY 2014) est présentée dans la Figure 87. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres des moûts quel que soit le millésime, le type de pressoir et le cépage.

L'acidité totale des moûts de PM 2013 est plus élevée que celle des moûts de CHY 2014 et diminue au cours du pressurage des raisins. Par exemple, sa valeur pour le moût S1 est respectivement de 10,3 g/L H₂SO₄ (PM 2013) et de 6,7 g/L H₂SO₄ (CHY 2014). L'acidité totale diminue respectivement jusqu'à 6,7 g/L H₂SO₄ (PM 2013) et 4,8 g/L H₂SO₄ (CHY 2014) dans le moût de fin de pressurage S5.

Les concentrations en acide malique et en potassium sont plus élevées dans les moûts de PM 2013 que celles des moûts CHY 2014. A l'inverse, les concentrations en sucres, en calcium, en acide tartrique des moûts de CHY 2014 sont plus élevées que celles des moûts de PM 2013, quel que soit la serre. En particulier, la concentration en acide gluconique des moûts de Pinot meunier 2013 (pressoir industriel) est plus élevée que celle des moûts de Chardonnay 2014 (pressoir de laboratoire).

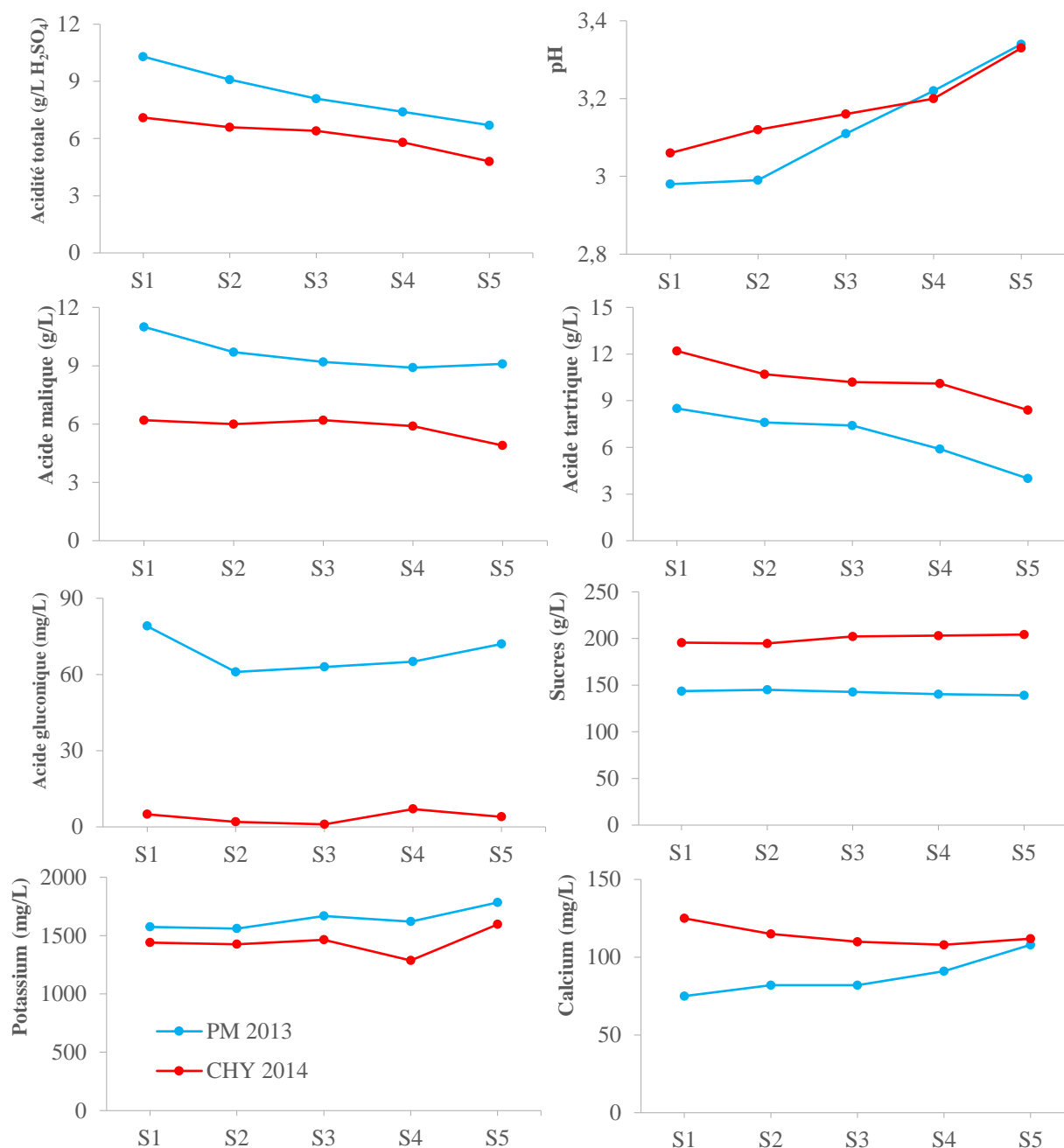


Figure 87. Comparaison des paramètres œnologiques des moûts au cours du pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

Alors que la concentration en acide malique et en acide tartrique des moûts des deux millésimes diminue, le pH augmente au cours du pressurage. La concentration en potassium et en sucres est stable durant le pressurage. Par exemple, la concentration en sucres est comprise entre 194,7 et 204,2 g/L pour les moûts de CHY 2014 et entre 139,1 et 143,5 g/L pour les moûts de PM 2013, au cours du pressurage.

Nos résultats montrent que la concentration en calcium des moûts de CHY 2014 diminue de 10% de S1 à S5, tandis que celle-ci augmente de 44% dans les moûts de PM 2013.

3.2. Comparaison de la composition des vins

Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de PM 2013 et CHY 2014 sont présentés dans la Figure 88. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres dans les vins quel que soit le millésime, le type de pressoir et le cépage.

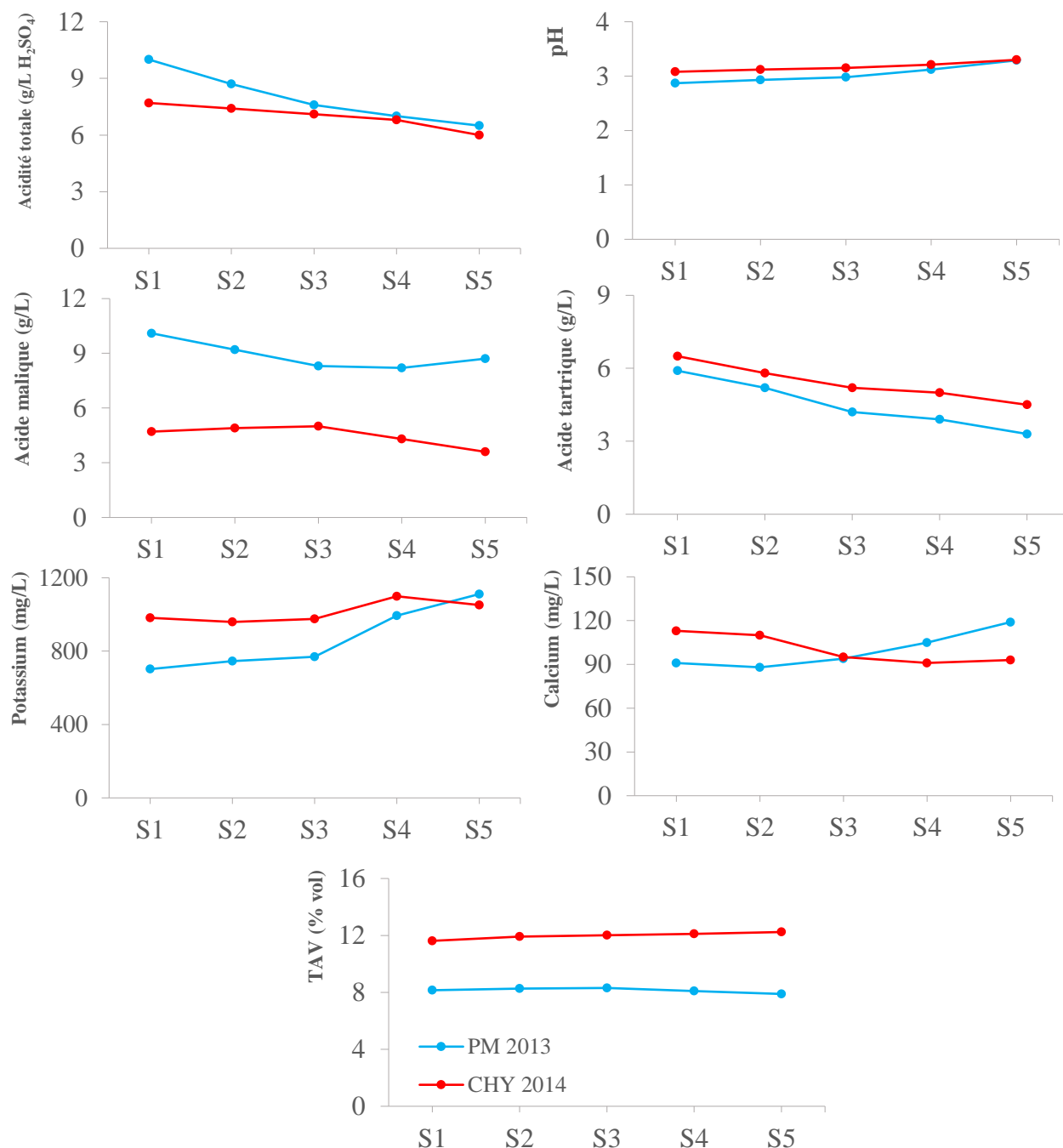


Figure 88. Comparaison des paramètres œnologiques des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (pressoir industriel) et Chardonnay 2014 (pressoir de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

L'acidité totale et la concentration en acide malique sont plus élevées dans les vins de PM 2013 que celles des vins de CHY 2014. Leurs valeurs diminuent au cours du pressurage. Par exemple, l'acidité totale des vins de PM 2013 et de CHY 2014 varie respectivement de 6,5 à 10,0 g/L H₂SO₄ et de 6,0 à 7,7 g/L H₂SO₄ du vin S1 au vin S5.

Contrairement à l'acidité totale, les concentrations en acide tartrique et en potassium (excepté pour le vin S5), le pH et le TAV sont plus élevés dans les vins de CHY 2014 que dans les vins de PM 2013. Par exemple, le TAV des vins S1 à S5 de PM 2013 et de CHY 2014 varie respectivement de 7,89 à 8,31% vol et de 11,62 à 12,24% vol.

La concentration en calcium est plus faible dans les vins S1 et S2 de PM 2013 que celle des vins S1 et S2 de CHY 2014. A l'inverse, sa valeur est plus élevée dans les vins S4 et S5 de PM 2013 par rapport aux vins de CHY 2014.

De plus, nos résultats montrent que la concentration en PS totaux des vins de Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire) est plus élevée que celle des vins de Pinot meunier 2013 (presseur industriel). Leurs concentrations sont respectivement de 167 à 244 mg/L pour les vins de Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et de 136 ± 5,0 à 201 ± 10,0 mg/L pour les vins de Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire).

Les % PRAGs par rapport aux PS totaux sont plus faibles dans les vins de CHY 2014 que ceux des vins de PM 2013, et diminuent au cours du pressurage quel que soit le millésime. Le % PRAGs diminue respectivement de 53,8 à 42,2% par rapport au PS totaux pour les vins de PM 2013 et de 43,8 à 39,7% par rapport au PS totaux pour les vins de CHY 2014.

Les % MPs, RG-II (% par rapport au PS totaux) sont plus élevés dans les vins de CHY 2014 que ceux des vins de PM 2013. Le % MPs des vins de CHY 2014 diminuent de 49,8 à 43,7% par rapport au PS totaux du vin S1 au vin S2, puis augmentent de 24,5% du vin S2 au vin S5 (54,4% par rapport au PS totaux) ; ceux des vins de PM 2013 augmentent 21,9% du vin S1 (39,8% par rapport au PS totaux) au vin S5 (48,5% par rapport au PS totaux). Le % MPs des vins de CHY 2014 et de PM 2013 augmentent au cours du pressurage.

Le % RG-II des vins de PM 2013 est maximal pour le vin S5 (9,5% par rapport au PS totaux), tandis que celui des vins de CHY 2014 est maximal pour le vin S2 (9,1% par rapport au PS totaux). Leurs valeurs pour les vins de PM 2013 et de CHY 2014 varient respectivement de 6,3 à 9,5% par rapport au PS totaux et de 6,6 à 9,1% par rapport au PS totaux du vin S1 au vin S5. Le % RG-II des vins de CHY 2014 diminue, ceux des vins de PM 2013 augmentent au cours du pressurage.



Figure 89. Comparaison de la concentration en PS totaux (mg/L), MPs (%), PRAGs (%), RG-II (%) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

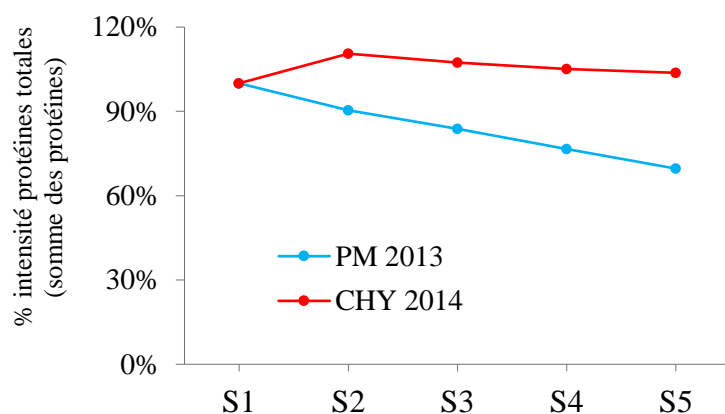


Figure 90. Comparaison de l'évolution des protéines totales (SDS-PAGE, % par rapport à S1) des vins issus du fractionnement au pressurage des raisins Pinot meunier 2013 (presseur industriel) et Chardonnay 2014 (presseur de laboratoire). S : Serre, étape du cycle de pressurage des raisins

La teneur en protéines totales (déterminée par la méthode SDS-PAGE) des vins de CHY 2014 sont plus élevée que celle des vins de PM 2013 (Figure 90). Leurs valeurs sont respectivement de 70 à 100% par rapport à S1 dans les vins de PM 2013, et de 104 à 111% par rapport à S1 dans les vins de CHY 2014 au vin S1 du vin S5. La teneur en protéines totales diminue au cours du pressurage quel que soit le type de pressoir et le millésime.

3.3. Discussion

Les résultats obtenus pour les moûts de raisins Pinot meunier 2013 (pressoir industriel) et Chardonnay 2014 (pressoir de laboratoire) montrent que l'acidité totale, les concentrations en acide malique, en acide gluconique et en potassium des moûts de PM 2013 sont plus élevées que celles du CHY 2014. A l'inverse, les concentrations en acide tartrique, en sucres et en calcium des moûts de PM 2013 sont plus faibles que celles des moûts de CHY 2014. Le pH des moûts de S1 à S3 de PM 2013 est plus faible que celui des moûts de CHY 2014 puis plus élevé dans les moûts de S4 à S5. Cependant, la tendance d'évolution de la composition des moûts des deux millésimes, au cours du pressurage, est la même ; une diminution de l'acidité totale, et des concentrations en acide malique et acide tartrique, ainsi qu'une augmentation de la concentration en potassium et du pH sont observées au cours le pressurage.

De plus, l'évolution des paramètres œnologiques déterminés pour les vins de PM 2013 (pressoir industriel) et les vins de CHY 2014 (pressoir de laboratoire) est la même que celle des moûts, au cours du pressurage. Cela indique qu'il n'y a pas eu d'impact particulier, dans le cadre de ces essais, ni du type de pressoir (pressoir de laboratoire ou pressoir industriel) ni du millésime et du cépage sur l'évolution des paramètres étudiés pour les moûts et les vins, au cours du fractionnement au pressurage. Il est important de noter que la concentration en acide gluconique des moûts de PM 2013 est plus élevée que celle des moûts de CHY 2014. L'acide gluconique correspond à un métabolite secondaire de *B.cinerea* et peut être utilisé comme un marqueur de la contamination fongique (Ribéreau-Gayon, 1988). Les modifications pouvant se produire lors d'une contamination dépendent largement de la nature et du degré de pourriture (Ribéreau-Gayon, 1988). Au cours de l'infection par *Botrytis cinerea*, des changements importants ont lieu dans la composition des raisins et des moûts extraits au cours du pressurage. Cela pourrait être expliqué par la composition initiale des jus de raisin et également la présence de *Botrytis cinerea* sur la pellicule des baies de raisin Chardonnay 2014. Des observations similaires ont été faites au cours d'études précédentes (Bocquet *et al.*, 1995; Cilindre *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2011).

4. Conclusions

Les résultats obtenus pour les moûts et les vins de Chardonnay des millésimes 2014 et 2015, au cours du pressurage (presseur de laboratoire), montrent que la plupart des paramètres étudiés : pH, concentrations en acide malique, acide tartrique, sucres, acide gluconique, azote assimilable, potassium, calcium et également en protéines totales des vins (méthode de Bradford) sont plus élevés dans les moûts du millésime 2014 que les paramètres déterminés pour le millésime 2015. La concentration en acide gluconique est plus élevée dans les moûts du millésime 2015 que celle du millésime 2014. Cela pourrait être expliqué par une contamination fongique (*Botrytis cinerea*) des raisins du millésime 2015, des conditions climatiques différentes favorisant le développement du champignon en 2015, ou la différence de stade de maturité des baies de raisin entre les deux millésimes. D'une manière générale, les tendances d'évolution des différents paramètres dans les moûts et les vins sont les mêmes, au cours du fractionnement au pressurage : la concentration en potassium est stable ; l'acidité totale, la concentration en acide malique et en acide tartrique diminue ; le pH augmente.

De la même façon, pour le cépage Pinot meunier, pour les deux millésimes et les deux presseurs, l'acidité totale, les concentrations en acide malique, en acide gluconique et également en calcium dans les moûts du millésime 2013 (presseur industriel) sont plus élevées que celles du millésime 2015 (presseur de laboratoire). A l'inverse, la concentration en sucres est plus élevée dans les moûts du millésime 2015 par rapport aux moûts du millésime 2013. Les résultats indiquent que la tendance d'évolution de la composition des moûts de Pinot meunier 2013 (presseur industriel), au cours du pressurage, est la même que celle des moûts de Pinot meunier 2015 (presseur de laboratoire), quel que soit le type de presseur et le millésime. Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de Pinot meunier des millésimes 2013 et 2015 suivant les mêmes tendances d'évolution que ceux déterminés pour les moûts correspondants, au cours du pressurage. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres dans les vins quel que soit le millésime et le type de presseur. Les différences de compositions des moûts et des vins de Pinot meunier observées entre les deux millésimes pourraient être expliquées par la différence de stade de maturité au moment du prélèvement des raisins et leur état sanitaire. De plus, les conditions climatiques (Figure 85 et Figure 86) peuvent influencer leurs concentrations. En effet, des raisins plus exposés au soleil sont plus riches en sucres et moins en acides, du fait d'une diminution de la concentration de ces acides dans la baie de raisin, en lien avec la photosynthèse (Spayd *et al.*, 2002).

Les résultats obtenus montrent également que les tendances d'évolution de la composition des moûts de Pinot meunier 2013 (pressoir industriel), au cours du pressurage, sont les mêmes que celles des moûts de Chardonnay 2014 (pressoir de laboratoire), quel que soit le type de pressoir et le cépage. Les différences de concentrations dans les moûts pourraient être expliquées par les conditions climatiques au cours de la maturation des raisins, le stade de maturité au moment du prélèvement des raisins ou le cépage. Les paramètres œnologiques déterminés pour les vins de Pinot meunier 2013 (pressoir industriel) et de Chardonnay 2014 (pressoir de laboratoire) suivent les mêmes tendances d'évolution que ceux déterminés pour les moûts correspondants. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution pour les différents paramètres quel que soit le millésime, le type de pressoir et le cépage.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit avait pour objectif de mieux comprendre l'effet du fractionnement au pressurage ainsi que l'impact de l'état sanitaire et de la maturité des raisins sur la composition et les caractéristiques des moûts et des vins de Champagne.

Les essais réalisés sur différents millésimes, types de pressoir et cépages nous ont permis d'obtenir des tendances générales quant à l'évolution de la composition et des caractéristiques des moûts et des vins au cours du pressurage. Les résultats suivants ont été obtenus :

- L'étude réalisée sur des raisins Pinot meunier du millésime 2013, sur pressoir industriel, montrent clairement l'impact du fractionnement au pressurage sur la composition chimique, les paramètres œnologiques, et en particulier des différences significatives de composition en protéines, en polysaccharides et en oligosaccharides des moûts et des vins de base. Cet impact et les tendances observées ont pu être confirmés à partir des raisins sains Chardonnay du millésime 2014, sur pressoir de laboratoire. Il est important de souligner, en particulier, qu'il s'agit de la première étude s'intéressant à l'évolution des oligosaccharides et des polysaccharides dans des vins de base au cours d'un pressurage. En effet, une diminution de la concentration en polysaccharides totaux, en mannoprotéines (MPs), en polysaccharides riches en arabinose et galactose (PRAGs), et en rhamnogalacturonane de type II (RG-II), dans les vins de base, a été mise en évidence au cours du cycle de pressurage. La composition initiale des jus extraits au cours du pressurage, le stade de maturité des baies de raisin, la dégradation par des enzymes pectinolytiques endogènes des parois cellulaires des baies de raisin mures pourraient expliquer l'évolution de la composition en polysaccharides et en oligosaccharides caractérisés dans les vins.

- L'influence de la maturité des raisins et du fractionnement des jus au pressurage sur la composition des moûts et des vins a été étudiée sur deux cépages : Chardonnay et Pinot meunier du millésime 2015, sur pressoir de laboratoire, en mettant en évidence l'importance des itinéraires techniques, le stade de maturité, le choix de la date de vendange, la qualité sanitaire de la vendange. Dans cette étude, il a également été observé une évolution des paramètres œnologiques et de certaines caractéristiques des moûts et des vins, au cours du pressurage. Des changements de composition en protéines des vins de base ont également pu être mis en évidence. L'étude de plusieurs millésimes permettrait de mieux comprendre ces changements en prenant en compte l'influence de facteurs tels que les conditions climatiques, le terroir, les pratiques culturales.

- L'impact d'une contamination par *Botrytis cinerea* et du fractionnement au pressurage a été étudié lors de la vendange 2014 sur des raisins Chardonnay sains et botrytisés, sur pressoir de laboratoire. La présence de la pourriture grise sur les baies de raisin influence la composition et la

Conclusion Générale et Perspectives

qualité des moûts et des vins au cours du pressurage. En particulier, ces résultats montrent l'effet significatif de *Botrytis cinerea* sur l'activité protéasique, la teneur et la composition en protéines des moûts et des vins issus du fractionnement au pressurage, mais également sur leur composition en polysaccharides (MPs, PRAGs, RG-II) et en oligosaccharides. Les paramètres œnologiques des moûts et des vins sains et botrytisés évoluent aussi modifiés au cours du pressurage. Notamment, les concentrations en MPs, en RG-II, et en PRAGs diminuent au cours du pressurage et sont 2 fois plus élevées dans les vins botrytisés par rapport aux concentrations déterminées pour les vins sains, pour une même serre. Quant à la teneur en protéines totales, celle-ci est 1,5 à 2 fois moins élevée dans les vins botrytisés par rapport aux concentrations déterminées dans les vins sains pour une même serre, au cours du pressurage. Une différence d'activité pectinolytique (non déterminée) dans les baies de raisin mures et la différence d'activité protéolytique (déterminée dans les vins) pourraient expliquer la différence de composition en protéines et en polysaccharides entre les moûts et les vins sains et botrytisés, au cours du pressurage.

Le dernier chapitre de ce travail visait à synthétiser et comparer certains résultats obtenus pour les moûts et les vins issus des différents fractionnements au pressurage de 2013 à 2015, et ce afin de comprendre l'effet éventuel du cépage, du millésime, du type de pressoir sur la composition des moûts et des vins de base, au cours du pressurage. D'une manière générale, nous observons les mêmes tendances d'évolution de composition des moûts et des vins au cours du pressurage, quel que soit le millésime, le type de pressoir et le cépage. Par contre pour les moûts ou les vins, les différences de concentrations qui peuvent être observées pour une même serre, pour certains paramètres analysés, pourraient être expliquées par le cépage, le millésime, les conditions climatiques au cours de la maturation des raisins, le stade de maturité au moment du prélèvement des raisins, et l'état sanitaire du raisin.

L'objectif de ce projet était de concevoir et de mettre à la disposition de l'œnologue un outil permettant de sélectionner des moûts au cours du pressurage en fonction d'un critère qualitatif pertinent, représentatif de l'évolution réelle de la qualité des moûts extraits, donc de la qualité du futur Champagne. Ce travail de thèse permet d'envisager différentes perspectives.

Nos résultats montrent que la concentration en macromolécules des vins : protéines et PS, est influencée par le stade de maturité des baies de raisin (maturité technique et maturité cellulaire), par l'état sanitaire de la vendange, et par le fractionnement au pressurage.

Conclusion Générale et Perspectives

Afin de déterminer ce(s) critère(s), l'étude devrait être poursuivie en considérant différents paramètres tels que le millésime, le cépage, les conditions climatiques, le stade de maturité des raisins, le terroir. Une approche statistique permettrait de prendre en compte l'ensemble de ces paramètres grâce à l'utilisation de méthodes et d'outils scientifiques rigoureux et éprouvés garantissant l'objectivité des résultats, afin de mettre en évidence des indicateurs de la qualité des vins. Cela permettrait d'étudier voire de confirmer les tendances d'évolution de la composition des moûts et des vins de base, et d'étoffer la base de données (millésime, cépage, stade de maturité des raisins, terroir, type de pressoir) en relation avec les qualités sensorielles des vins de Champagne.

La connaissance de l'état sanitaire et l'optimisation du choix de la date des vendanges en fonction de la maturité sont des outils à la disposition de l'œnologue qui lui permettent d'améliorer la qualité des moûts produits au cours du pressurage et par conséquent celle des vins qui sont ensuite élaborés. A la suite de cette approche, il serait intéressant de voir dans quelles conditions ces paramètres pourraient être reproduits à grande échelle pour une application industrielle.

La perception que le consommateur se fait de la qualité d'un Champagne passe aussi par la visualisation de la mousse du vin qu'il déguste. La composition en protéines et en polysaccharides influencerait les propriétés moussantes des vins effervescents (Pueyo *et al.*, 1995; Andrés-Lacueva *et al.*, 1996; López-Barajas *et al.*, 1997; López-Barajas *et al.*, 1998; Lao *et al.*, 1999; Moreno-Arribas *et al.*, 2000; López-Barajas *et al.*, 2001; Marchal *et al.*, 2001; Marchal *et al.*, 2006; Douillard et Aguié-Béghin, 2011). Il serait donc intéressant de poursuivre ce travail par l'étude de l'effet du fractionnement au pressurage sur les propriétés moussantes des vins de base et du Champagne en corrélant ces caractéristiques avec la composition en protéines et en polysaccharides, et les paramètres œnologiques de ces vins.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abdallah, Z., Aguié-Béghin, V., Abou-Saleh, K., Douillard, R. and Bliard, C. (2010). Isolation and analysis of macromolecular fractions responsible for the surface properties in native Champagne wines. *Food Research International*, 43(4), 982-987.

Aguilar-Uscanga, B. and Francois, J. M. (2003). A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in Applied Microbiology*, 37, 268-274.

Ajouz, S. (2009). Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, p 212.

Albersheim, P., Nevins, D. J., English, P. D. and Karr, A. (1967). A method for the analysis of sugars in plant cell wall polysaccharides by gas liquid chromatography. *Carbohydrate Research*, 5(3), 340-345.

Amrani Joutei, K., Glories, Y. and Mercier, M. (1994). Localisation des tanins dans la pellicule de baie de raisin. *Vitis*, 33, 133-138.

Andrés-Lacueva, C., López-Tamames, E., Lamuela-Raventós, R. M., Buxaderas, S. and de la Torre-Boronat, M. C. (1996). Characteristics of sparkling base wines affecting foam behaviour. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 989-995.

Annis, S. L. and Goodwin, P. H. (1997). Recent advances in the molecular genetics of plant cell wall-degrading enzymes produced by plant pathogenic fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 1-14.

Apolinar-Valiente, R., Williams, P., Romero-Cascales, I., Gomez-Plaza, E., López-Roca, J. M., Ros-Garcia, J. M. and Doco, T. (2013). Polysaccharide composition of Monastrell red wines from four different Spanish terroirs: effect of wine-making techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(10), 25-38.

Apolinar-Valiente, R., Williams, P., Mazerolles, G., Romero-Cascales, I., Gómez-Plaza, E., Lopez-Roca, J. M., Ros-Garcia, J. M. and Doco, T. (2014). Effect of enzyme additions on the oligosaccharide composition of Monastrell red wines from four different wine-growing origins in Spain. *Food Chemistry*, 156, 151-159.

Apolinar-Valiente, R., Romero-Cascales, I., Williams, P., Gómez-Plaza, E., López-Roca, J. M., Ros-García, J. M. and Doco, T. (2015). Oligosaccharides of Cabernet Sauvignon, Syrah and Monastrell red wines. *Food Chemistry*, 179, 311-317.

Arnous, A. and Meyer, A. S. (2009). Quantitative prediction of cell wall polysaccharide composition in grape (*Vitis vinifera* L.) and apple (*Malus domestica*) skins from acid hydrolysis monosaccharide profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3611-3619.

Références bibliographiques

- Aro, N., Pakula, T. and Penttilä, M. (2005). Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. *Microbiology Reviews*, 29, 719-739.
- Ayestarán, B., Guadalupe, Z. and León, D. (2004). Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 29-39.
- Bais, A. J., Murphy, P. J. and Dry, I. B. (2000). The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27, 425-433.
- Ballou, C. E. (1976). The structure and biosynthesis of the mannan component of the yeast cell envelope. *Advances in Microbial Physiology*, 14, 93-158.
- Ballou, C. E. (1990). Yeast cell-wall and cell surface isolation, characterization, and properties of *Saccharomyces cerevisiae* mutants with nonconditional protein glycosylation defects. *Methods in Enzymology*, 185, 440-470.
- Baptista, A. S., Horii, J., Calori-Domingues, M. A., Gloria, E. M. D., Salgado, J. M. and Vizioli, M. R. (2004). The capacity of manno-oligosaccharides, thermolysed yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 20, 475-481.
- Barnavon, L., Doco, T., Terrier, N., Ageorges, A., Romieu, C. and Pellerin, P. (2001). Involvement of pectin methyl-esterase during the ripening of grape berries: cDNA isolation, transcript expression and changes in the degree of methyl-esterification of cell wall pectins. *Phytochemistry*, 58, 693-701.
- Bayly, F. C. and Berg, H. W. (1967). Grape and wine proteins of white wine varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 18(1), 18-32.
- Bejaoul, H., Mathieu, F., Taillandier, P. and Lebrihi, A. (2004). Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 97(5), 1038-1044.
- Bell, S. J. (1994). The effect of nitrogen fertilization on the growth, yield and juice composition of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon grapevines. PhD Thesis, University of Western Australia, p 214.
- Bessis, R. (1972). Etude en microscopie électronique à balayage des rapports entre l'hôte et le parasite dans le cas de la pourriture grise. *Centre de Recherches Académiques des Sciences*, 274, 2991-2994.
- Billon, G. G., Rasclé, C., Droux, M., Rollin, J. A. and Poussereau, N. (2011). pH modulation differs during sunflower cotyledon colonization by the two closely related necrotrophic fungi *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Molecular Plant Pathology*, 6, 568-578.

Références bibliographiques

- Bindon, K. A., Dry, P. R. and Loveys, B. R. (2008). The interactive effect of pruning level and irrigation strategy on grape berry ripening and composition in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 29, 71-78.
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H. and Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1696-1705.
- Blouin, J. (1998). In: Flanzly C. *Oenologie-Fondements scientifiques et technologique*. Editions Tec et Doc Lavoisier, Paris, 909-916.
- Blouin, J. and Gimberteau, G. (2000). *Maturation et maturité des raisins*. Editions Féret, 168.
- Blouin, J. and Cruège, J. (2003). *Analyse et composition des vins: comprendre le vin*. 2^e édition. Editions Dunod. La Vigne, 328.
- Bocquet, F., Moncomble, D. and Valade, M. (1995). Etat sanitaire de la vendange et qualité des vins. *Le Vigneron Champenois*, 7/8, 15-23.
- Bocquet, F., Moncomble, D. and Valade, M. (1996). Raisins botrytisés: adapter le fractionnement des jus lors du pressurage. *Le Vigneron Champenois*, 9, 15-24.
- Bolay, A. and Pezet, R. (1987). Problèmes actuels de la lutte contre les maladies de la vigne. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 19, 21-24.
- Bordiga, M., Travaglia, F., Meyrand, M., German, J. B., Lebrilla, C. B., Coïsson, J. D., Arlorio, M. and Barile, D. (2012). Identification and characterization of complex bioactive oligosaccharides in white and red wine by a combination of mass spectrometry and gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(14), 3700-3707.
- Boulet, J. C., Williams, P. and Doco, T. (2007). A Fourier Transform Infrared spectroscopy study of wine polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 69(1), 79-85.
- Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F. and Kunkel, R. E. (1996). *Principles and practices of winemaking*. Chapman and Hall: New York, Springer, 604.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248-254.
- Brissonnet, F. and Maujean, A. (1993). Characterisation of foaming proteins in a champagne base wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 297-301.
- Burroughs, L. F. (1971). Amino acids. In: *The biochemistry of fruits and their products*. Academic Press Londres et New York, 125-128.

Références bibliographiques

- Cabanis, T., Cabanis, J.C., Rafty, J., Peyronnenche, M., Viotte, O. and Leboeuf, J.P. (1983) L'infraalyzer 400 : une détermination automatique du titre alcoométrique des vins. *Revue Française d'Œnologie* 89, 75–79.
- Cabanis, J. C. and Cabanis, M. T. (1998). In: Flanzly C. *Oenologie - Fondements scientifiques et technologiques*. Editions Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1311.
- Cabanne, C. and Donèche, B. (2001). Changes in polygalacturonase activity and calcium content during ripening of grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(4), 331-335.
- Canals, R., Llaudy, M. C., Valls, J., Canals, J. M. and Zamora, F. (2005). Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4019-4025.
- Candiano, G., Bruschi, M., Musante, L., Santucci, L., Ghiggeri, G. M., Carnemolla, B., Orecchia, P., Zardi, L. and Righetti, P. G. (2004). Blue silver: a very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. *Electrophoresis*, 25(9), 1327-1333.
- Carbone, K. and Fiordiponti, L. (2016). Colour evaluation, bioactive compound content, phenolic acid profiles and in vitro biological activity of Passerina del Frusinate white wines: influence of pre-fermentative skin contact times. *Molecules*, 21(7), 960-969.
- Carbonneau, A., Escudier, J. L. and Mauguin, P. (2017). *De l'œnologie à la viticulture*. Editions Quae, p 280, 27-28.
- Caridi, A., Galvano, F., Tafuri, A. and Ritieni, A. (2006). Ochratoxin A removal during winemaking. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(1), 122-126.
- Carpita, N. C. and Gibeaut, D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal*, 3, 1-30.
- Carrington, C. M., Greve, L. C. and Labavitch, J. M. (1993). Cell wall metabolism in ripening fruit. Effect of the antisense polygalacturonase gene on cell wall changes accompanying ripening in transgenic tomatoes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 103, 429-434.
- Chabas, J., Grenier, P., Sinfort, C. and Desseigne, J. M. (2003). *Technologie de précision en cave vinicole*. Editions 2003, Editeur Cemagref, p 136.
- Chaïb, J., Devaux, M. F., Grotte, M. G., Robini, K., Causse, M., Lahaye M. and Marty, I. (2007). Physiological relationships among physical, sensory, and morphological attributes of texture in tomato fruits. *Journal of Experimental Botany*, 58(8), 1915-1925.
- Chardonnet, C., Gomet, H. and Donèche, B. (1994). Evolution des polyosides des parois cellulaires au cours du développement du raisin. *Vitis*, 33, 69-74.

Références bibliographiques

- Choquer, M., Fournier, E., Kunz, C., Levis, C., Pradier, J. M., Simon, A. and Viaud, M. (2007). *Botrytis cinerea* virulence factors: new insights into a necrotrophic and polyphageous pathogen. *Federation of European Microbiological Societies*, 277(1), 1-10.
- Christensen, A. B., Cho, B. H., Naesby, M., Gregersen, P. L., Brandt, J., Madriz-Ordenana, K., Collinge, D. B. and Thordal-Christensen, H. (2002). The molecular characterization of two barley proteins establishes the novel PR-17 family of pathogenesis-related proteins. *Molecular Plant Pathology*, 3(3), 135-144.
- Ciezack, G., Hazo, L., Chambat, G., Heyraud, A., Lonvaud-Funel, A. and Dols-Lafargue, M. (2010). Evidence for exopolysaccharide production by *Oenococcus oeni* strains isolated from non-ropy wines. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 499-509.
- Cilindre, C., Castro, A. J., Clément, C., Jeandet, P. and Marchal, R. (2007). Influence of *Botrytis cinerea* infection on Champagne wine proteins (characterized by two-dimensional electrophoresis/immunodetection) and wine foaming properties. *Food Chemistry*, 103(1), 139-149.
- Cilindre, C., Jégou, S., Hovasse, A., Schaeffer, C., Castro, A. J., Clément, C., Van Dorsselaer, A., Jeandet, P. and Marchal, R. (2008). Proteomic approach to identify champagne wine proteins as modified by *Botrytis cinerea* infection. *Journal of Proteome*, 7, 1199-1208.
- Coelho, E., Reis, A., Domingues, M., Rosário, M., Rocha, S. M. and Coimbra, M. A. (2011). Synergistic effect of high and low molecular weight molecules in the foamability and foam stability of sparkling wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3168-3179.
- Coimbra, M. A., Goncalves, F., Barros, A. S. and Delgadillo, I. (2002). Fourier Transform Infrared spectroscopy and chemometric analysis of white wine polysaccharide extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3405-3411.
- Comménil, P., Belingheri, L., Sancholle, M. and Dehorter, B. (1995). Purification and properties of an extracellular lipase from the fungus *Botrytis cinerea*. *Lipids*, 30(4), 351-356.
- Comménil, P., Belingheri, L., Audran, J. C., Collas, A. and Dehorter, B. (1996). Anti-botrytis activity in epicuticular waxes of young grape berries of *Vitis vinifera* cultivar Pinot noir. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 30, 7-13.
- Comménil, P., Belingheri, L., Dehorter, B. and Bauw, G. (1999). Molecular characterization of a lipase induced in *Botrytis cinerea* by components of grape berry cuticle. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55, 37-43.
- Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dias, A. C. P., Tavares, R. M., Sousa, M. J. and Geros, H. (2007). Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food*, 1(1), 1-22.
- Considine, J. A. and Knox, R. B. (1979). Development and histochemistry of the cells, cell walls and cuticle of the dermal system of fruit of the grape, *Vitis vinifera* L. *Protoplasma*, 99, 347-365.

Références bibliographiques

- Coombe, B. G. (1960). Relation of growth and development to changes in sugar, auxins and gibberellins in fruits of seeded and seedless varieties of *Vitis vinifera*. *Plant Physiology*, 35, 241-250.
- Coombe, B. G. (1973). Regulation of set and development of the grape berry. *Acta Horticulturae*, 34, 261-269.
- Coombe, B. G. (1976). The development of fleshy fruits. *Annual Review of Plant Biology*, 27, 207-228.
- Coombe, B. G. (1980). Development of the grape berry. I. Effects of time of flowering and competition. *Journal of Agricultural Research*, 31, 125-131.
- Coombe, B. G. and Nii, N. (1983). Structure and development of the berry and pedicel of the grape *Vitis vinifera*. *Acta Horticulturae*, 139, 129-140.
- Coombe, B. G. (1987). Distribution of solutes within the developing grape berry in relation to its morphology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 127-127.
- Coombe, B. G. (1992). Research on development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43, 101-109.
- Coombe, B. G. and McCarthy, M. G. (2000). Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 131-135.
- Cotoras, M. and Silva, E. (2005). Differences in the initial events of infection of *Botrytis cinerea* strains isolated from tomato and grape. *Mycologia*, 97(2), 485-492.
- Culbert, J. A., McRae, J. M., Condé, B. C., Schmidtke, L. M., Nicholson, E. L., Smith, P. A., Howell, K. S., Boss P. K. and Wilkinson K. L. (2017). Influence of production method on the chemical composition, foaming properties, and quality of Australian carbonated and sparkling white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(7), 1378-1386.
- da Silva, F. G., Iandolo, A., Al-Kayal, F., Bohlmann, M. C., Cushman, M. A. and Lim, H. (2005). Characterizing the grape transcriptome. Analysis of expressed sequence tags from multiple *Vitis* species and development of a compendium of gene expression during berry development. *Plant Physiology*, 139, 574-597.
- Dambrouck, T., Marchal, R., Marchal-Delahaut, L., Parmentier, M., Maujean, A. and Jeandet, P. (2003). Immunodetection of proteins from grapes and yeast in a white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2727-2732.
- Dambrouck, T., Marchal, R., Cilindre, C., Parmentier, M. and Jeandet, P. (2005). Determination of the grape invertase content (using PTA-ELISA) following various fining treatments versus changes in the total protein content of wine. Relationships with wine foamability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8782-8789.

Références bibliographiques

Darias-Martin, J. J., Rodríguez, O., Díaz, E. and Lamuela-Raventós, R. M. (2000). Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine. *Food Chemistry*, 71, 483-487.

Darias-Martin, J., Diaz-Gonzalez, D. and Diaz-Romero, C. (2004). Influence of two pressing processes on the quality of must in white wine production. *Journal of Food Engineering*, 63(3), 335-340.

Davaux, F., Charrier, F., Vinsonneau, E., Cottereau, P., Solanet, D., Chatelet, B., Cayla, L., Richard, N. and Crachereau, J.-C. (2013). Application des inhibiteurs de cristallisation et plus particulièrement des gommes de cellulose à la stabilisation tartrique des vins rouge et rosé. *Revue Française d'Oenologie*, 259, 7-15.

Davies, C. and Robinson, S. P. (1996). Sugar accumulation in grape berries. *Plant Physiology*, 111(533), 275-283.

Davies, C., Shin, R., Liu, W., Thomas, M. R. and Schachtman, D. P. (2006). Transporters expressed during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development are associated with an increase in berry size and berry potassium accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 57(12), 3209-3216.

del Barrio-Galán, R., Medel-Marabolí, M. and Peña-Neira, Á. (2015). Effect of different ageing techniques on the polysaccharide and phenolic composition and sensorial characteristics of Chardonnay white wines fermented with different selected *Saccharomyces Cerevisiae* yeast strains. *European Food Research and Technology*, 242(7), 1069-1085.

Deloire, A. (2011). The concept of berry sugar loading. *Oenology research, Winetech Technical*, 257, 93-95.

Delsart, C., Grimi, N., Boussetta, N., Miot Sertier, C., Ghidossi, R., Vorobiev, E. and Peuchot, M. M. (2016). Impact of pulsed-electric field and high-voltage electrical discharges on red wine microbial stabilization and quality characteristics. *Journal of Applied Microbiology*, 120(1), 152-164.

Deluc, L. G., Quilici, D. R., Decendit, A., Grimplet, J., Wheatley, M. D. and Schlauch, K. A. (2009). Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *Genomics*, 10, 212-245.

Derckel, J. P., Legendre, L., Audran, J. C., Haye, B. and Lambert, B. (1996). Chitinases of the grapevine (*Vitis vinifera* L.): five isoforms induced in leaves by salicylic acid are constitutively expressed in other tissues. *Plant Science*, 119(1-2), 31-37.

Derckel, J. P., Baillieul, F., Manteau, S., Audran, J. C., Haye, B. and Lambert, B. (1999). Differential induction of grapevine defenses by two strains of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 89(3), 197-203.

Dewey, F. M., Hill, M. and DeScenzo, R. (2008). Quantification of *Botrytis* and laccase in winegrapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59, 47-54.

Références bibliographiques

- Deytieux, C., Geny, L., Donèche, B. (2005). Relation between hormonal balance and polygalacturonase activity in grape berry. *Acta Horticulturae*, 682(15), 163–170
- Deytieux, C., Geny, L., Lapaillerie, D., Claverol, S., Bonneau, M. and Donèche, B. (2007). Proteome analysis of grape skins during ripening. *Journal of Experimental Botany*, 58, 1851-1862.
- Di Carli, M., Zamboni, A., Pè, M. E., Pezzotti, M., Lilley, K. S. and Benvenuto, E. (2011). Two-dimensional differential in gel electrophoresis (2D-DIGE) analysis of grape berry proteome during postharvest withering. *Journal of Proteome*, 10, 429-446.
- Dimopoulou, M. (2013). Les polysaccharides de la bactérie lactique *Oenococcus oeni*, de l'élucidation de leurs structures et voies de biosynthèse à leur valorisation technologique. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, p 211.
- Doco, T., Lecas, M., Pellerin, P., Brillouet, J. M. and Moutounet, M. (1995). Les polysaccharides pectiques de la pulpe et de la pellicule de raisin. Quel devenir pendant la phase pré-fermentaire ?. *Revue Française d'Oenologie*, 153, 16-23.
- Doco, T., Brillouet, J. M. and Moutounet, M. (1996). Evolution of grape (*Carignan noir cv.*) and yeast polysaccharides during fermentation and post-maceration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47, 108-110.
- Doco, T., Quellec, N., Moutounet, M. and Pellerin, P. (1999). Polysaccharide patterns during the aging of Carignan noir red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(1), 25-32.
- Doco, T., Vuchot, P., Cheynier, V. and Moutounet, M. (2003). Structural modification of wine arabinogalactans during aging on lees. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(1), 150-157.
- Doco, T., Williams, P. and Cheynier, V. (2007). Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments on wine polysaccharide composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6643-6649.
- Doco, T., Lecas, M., Pellerin, P., Brillouet, J. M. and Moutounet, M. (2010). Wine complex carbohydrates. In *Macrowine*, 79(3), 18-26.
- Doco, T. and Williams, P. (2013). Purification and structural characterization of a type II arabinogalactan-protein from champagne wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(3), 364-369.
- Doco, T., Williams, P., Meudec, E., Cheynier, V. and Sommerer, N. (2015). Complex carbohydrates of red wine: characterization of the extreme diversity of neutral oligosaccharides by ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(2), 671-682.
- Doehlemann, G., Molitor, F. and Hahn, M. (2005). Molecular and functional characterization of a fructose specific transporter from the gray mold fungus *Botrytis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology*, 42, 601-610.

Références bibliographiques

Dokoozlian, N. K. (2002). Chapter : Table grape growth and development. In *The grape vine book*, 2-4, 30-38. Second Edition, Ted Goldammer, 728.

Doneche, B. (1991). Influence des sucres sur la laccase de *Botrytis cinerea* dans le cas de la pourriture noble du raisin. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 25(2), 111-115.

Donèche, B. and Chardonnet, C. (1992). Evolution et localisation des principaux cations au cours du développement du raisin. *Vitis*, 31, 175-181.

Donèche, B. (1993). Botrytized wines. *Wine microbiology and biotechnology*. Editions G.H. Fleet, Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland, 327-52.

Douillard, R. and Aguié-Béghin, V. (2011). Incidence des macromolécules sur la tenue de mousse d'un champagne. Congrès des Œnologues de France "Des Bulles en Champagne" Reims. *Revue Française d'Oenologie* numéro 246, 20-26.

Du Plessis, C. S. (1983). Maturité optimale et mesures de qualité autres que les sucres. *Bulletin O.I.V.*, 634, 834-851.

Dubernet, M. (1976). Dosage automatique de l'acidité volatile dans les vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 10(3), 297-309.

Dubernet, M., Ribéreau-Gayon, P., Lerner, H. R., Harel, E. and Mayer, A. M. (1977). Purification and properties of laccase from *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry*, 16, 191-193.

Dubos, B. (2002). *Maladies cryptogamiques de la vigne: champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne*. Editions Féret, 2e édition, p 174.

Dubourdieu, D. and Pucheu-Plante, B. (1978). Structure, rôle et localisation du glucane exocellulaire sécrété par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 287, 571-573.

Dubourdieu, D. (1982). Recherche sur les polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux 2, p 246.

Dubourdieu, D. and Lavigne, V (2003). Rôle du glutathion sur l'évolution aromatique des vins blancs sec. Actes du 13ème Symposium International d'Oenologie, Montpellier, 9 au 12 juin 200, p 10.

Ducasse, M. A., Williams, P., Meudec, E., Cheynier, V. and Doco, T. (2010). Isolation of Carignan and Merlot red wine oligosaccharides and their characterization by ESI-MS. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 747-754.

Ducasse, M. A., Williams, P., Canal-Llaubères, R. M., Mazerolles, G., Cheynier, V. and Doco, T. (2011). Effect of macerating enzymes on the oligosaccharide profiles of Merlot red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(12), 6558-6567.

Références bibliographiques

Dunsford, P. A. and Sneyd, T. N. (1989). Pressing for quality. Proceeding of the Seventh Australian Wine Industry Technical Conference. Industry Technical Conference, Adelaide, South Australia, Australian Industrial Publishers, 18, 89-92.

Dupin, V. S. I., M. McKinnon, B., Ryan, C., Boulay, M., Andrew, J. M., Graham, P. J., Patrick, J. W. and Elizabeth, J. W. (2000). *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins that protect wine from protein haze: their release during fermentation and lees contact and a proposal mechanism of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3098-3310.

Dupuch, V. (1997). Entretien des sols viticoles et conséquences œnologiques. *Progrès Agricole et Viticole*, 114, 152-156.

Duteurtre, B. (2016). *Le Champagne : De la tradition à la science*. Éditions Lavoisier, Tec & Doc, p 392.

Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, B. and Delen, N. (2007). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Kluwer Academic Publishers, p 428.

El Oirdi, M., El Rahman, T. A., Rigano, L., El Hadrami, A., Rodriguez, M. C., Daayf, F., Vojnov, A. and Bouarab, K. (2011). *Botrytis cinerea* manipulates the antagonistic effects between immune pathways to promote disease development in tomato. *The Plant Cell*, 23, 2405-2421.

Elmer, P. A. G. and Michailides, T. J. (2007). Chapter 14: Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops in Y. Elad *et al.* (eds.), *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, Kluwer Academic Publishers, p 428.

Escarpa, A. and Gonzalez, M.C. (2001). An overview of analytical Chemistry of Phenolic Compounds in Foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(2), 57-139.

Eschenbruch, R. (1974). Sulfite and sulfide formation during winemaking - A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25(3), 157-161.

Espino, J. J., Gutiérrez-Sánchez, G., Brito, N., Shah, P., Orlando, R. and González, C. (2010). The *Botrytis cinerea* early secretome. *Proteomics*, 10(16), 3020-3034.

Esteruelas, M., González Royo, E., Kontoudakis, N., Orte, A., Cantos, A., Canal, J. M. and Zamora, F. (2015). Influence of grape maturity on the foaming properties of base wines and sparkling wines (Cava). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2071-2080.

Famiani, F., Walker, R. P., Técsi, L., Chen, Z., Proietti, P. and Leegood, R. C. (2000). An immunohistochemical study of the compartmentation of metabolism during the development of grape (*Vitis vinifera* L.) berries. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 675-683.

Fang, F., Li, J.M., Pan, Q.H. and Huang, W.D. (2007). Determination of red wine flavonoids by HPLC and effect of aging. *Food Chemistry*, 101(4), 428- 433.

Références bibliographiques

- Ferenczi, S. (1966). Etude des protéines et des substances azotées : leur évolution au cours des traitements œnologiques ; Conditions de la stabilité protéique des vins. Bull. O.I.V, 39, 1311-1336.
- Fernandez-Lopez, J., Hidalgo, V., Almela, L. and Roca, J. M. L. (1992). Quantitative changes in anthocyanin pigments of *Vitis vinifera* cv. Monastrell during maturation. Journal of the Science of Food and Agriculture 58, 153-155.
- Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V., Escudero, A. and Cacho, J. (1998). Role of hydroxycinnamic acids and flavanols in the oxidation and browning of white wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(12), 4937-4944.
- Ferreira, R. B., Monteiro, S., Picarra-Pereira, M. A., Tanganho, M. C., Loureiro, V. B. and Teixeira, A. R. (2000). Characterization of the proteins from grapes and wines by immunological methods. American Journal of Enology and Viticulture, 51(1), 22-28.
- Ferreira, R. B., Piçarra-Pereira, M. A., Monteiro, S., Loureiro, V. B. and Teixeira, A. R. (2002). The wine proteins. Trends in Food Science & Technology, 12(7), 230-239.
- Ford, C. (2012). The biochemistry of organic acids in the grape. In The Biochemistry of the Grape Berry; Illinois: Bentham Science Publishers, 67-88, p 213.
- Fortes, A. M., Agudelo-Romero, P., Silva, M. S., Ali, K., Sousa, L. and Maltese, F. (2011). Transcript and metabolite analysis in Trincadeira cultivar reveals novel information regarding the dynamics of grape ripening. Plant Biology, 11, 149-183.
- Fourie, J. F. and Holz, G. (1995). Initial infection processes by *Botrytis cinerea* on nectarine and plum fruit and the development of decay. Phytopathology, 85(1) 82-87.
- Fournier, E., Gladioux, P. and Giraud, T. (2013). The ‘Dr Jekyll and Mr Hyde fungus’: noble rot versus gray mold symptoms of *Botrytis cinerea* on grapes. Evolutionary Applications, 6(6), 960-969.
- Fukui, M., Okuda, T., Takayanagi, T. and Yokotsuka, K. (2003). Characteristics of proteins in juice and wine produced from Semillon grapes. Journal Brewing Society of Japan, 98(8), 582-588.
- Fraige, K., Gonzalez Fernandez, R., Carrilho, E. and Jorrin Novo, J. V. (2015). Metabolite and proteome changes during the ripening of Syrah and Cabernet Sauvignon grape varieties cultured in a nontraditional wine region in Brazil. Journal of Proteomics, 113, 206-225.
- Francioli, S., Buxaderas, S. and Pellerin, P. (1999). Influence of *Botrytis cinerea* on the polysaccharide composition of *Xarel.lo* musts and cava base wines. American Journal of Enology and Viticulture, 50(4), 456-460.
- Frevert, J. and Ballou, C. E. (1985). *Saccharomyces cerevisiae* structural cell wall mannoprotein. Biochemistry, 24(3), 753-759.

Références bibliographiques

Galet, P. (2000). Dictionnaire encyclopédique des cépages et de leurs synonymes. Editions Libre et Soldaire. Hachette, p 1284.

Gao, Y., Fangel, J. U., Willats, W. G., Vivier, M. A. and Moore, J. P. (2015). Dissecting the polysaccharide-rich grape cell wall changes during winemaking using combined high-throughput and fractionation methods. *Carbohydrate Polymers*, 133, 567-577.

Garde-Cerdan, T., Lorenzo, C., Félix Lara, J., Pardo, F., Ancín-Azpilicueta, C. and Rosario Salinas, M. (2009). Study of the evolution of nitrogen compounds during grape ripening. Application to differentiate grape varieties and cultivated systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2410-2419.

Gaspar, Y., Johnson, K. L., McKenna, J. A., Bacic, A. and Schultz, C. J. (2001). The complex structures of arabinogalactan-proteins and the journey towards understanding function. *Plant Molecular Biology*, 47, 161-176.

Gérard, C. (2014). Caractérisation d'inhibiteurs de protéases lors de l'interaction entre la vigne et *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, p 325.

Gerbaud, V., Gabas, N., Laguerie, C., Blouin, J., Vidal, S., Moutounet, M. and Pellerin, P. (1996). Effect of wine polysaccharides on the nucleation of potassium hydrogen tartrate in model solutions. *Chemical Engineering Research and Design*, 74(7), 782-790.

Gerbaud, V., Gabas, N., Blouin, J., Pellerin, P. and Moutounet, M. (1997). Influence of wine polysaccharides and polyphenols on the crystallization of potassium hydrogen tartrate. Effet des polysaccharides et des polyphénols du vin sur la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 31(2), 65-83.

Gil-ad, N. L., Bar-Nun, N. and Mayer, A. M. (2001). The possible function of the glucan sheath of *Botrytis cinerea*: effects on the distribution of enzyme activities. *Microbiology*, 199, 109-113.

Gil, M., Kontoudakis, N., Gonzalez, E., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M. and Zamora, F. (2012). Influence of grape maturity and maceration length on color, polyphenolic composition, and polysaccharide content of Cabernet Sauvignon and Tempranillo wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(32), 7988-8001.

Gil, M., Quiros, M., Fort, F., Morales, P., Gonzalez, R., Canals, J. M. and Zamora, F. (2015). Influence of grape maturity and maceration length on polysaccharide composition of Cabernet Sauvignon red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(3), 393-397.

Gindro, K. (2000). Etudes de la sporulation de *Botrytis cinerea* Pers.:Fr.: : purification, caractérisation et rôle d'une cutinase constitutive des conidies non germées. Thèse de Doctorat, Université de Lausanne, p 231.

Giribaldi, M., Perugini, L., Sauvage, F. X. and Schubert, A. (2007). Analysis of protein changes during grape berry ripening by 2-DE and MALDI-TOF. *Proteomics*, 7(17), 3154-3170.

Références bibliographiques

- Goetz, G., Fkyerat, A., Métais, N., Kunz, M., Tabacchi, R., Pezet, R. and Pont, V. (1999). Resistance factors to grey mould in grape berries: identification of some phenolics inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry*, 52, 759-767.
- Gómez-Alonso, S., García-Romero, E. and Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3), 618 -626.
- Gomez-Miguez, M., Gonzalez-Miret, M., Hernanz, D., Angeles Fernandez, M., Vicario, I. and Heredia, F. (2007). Effects of prefermentative skin contact conditions on colour and phenolic content of white wines. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 238-245.
- Gonçalves, F., Heyraud, A., Norberta de Pinho, M. and Rinaudo, M. (2002). Characterization of white wine mannoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (21), 6097-6101.
- Grassin, C. and Dubourdiou, D. (1989). Quantitative determination of *Botrytis* laccase in musts and wines by the syringaldazine test. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 48, 369-376.
- Grimplet, J., Wheatley, M. D., Jouira, H. B., Deluc, L. G., Cramer, G. R. and Cushman, J. C. (2009). Proteomic and selected metabolite analysis of grape berry tissues under well-watered and water-deficit stress conditions. *Proteomics*, 9(9), 2503-2528.
- Gross, K. C. and Sams, C. E. (1984). Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. *Phytochemistry*, 23, 2457-2461.
- Guadalupe, Z. and Ayestarán, B. (2007). Polysaccharide profile and content during the vinification and aging of tempranillo red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10720-10728.
- Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Williams, P. and Doco, T. (2014). Determination of must and wine polysaccharides by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) and size-exclusion chromatography (SEC). In Kishan Gopal Ramawat & Jean-Michel Mérillon (Eds.), *Book Polysaccharides: Bioactivity and biotechnology* (pp.1265-1297). Springer International Publishing Switzerland, p 2232.
- Guelfat-Reich, S. and Safran, B. (1971). Indices of maturity of table grapes as determined by cultivar. *American Journal of Enology and Viticulture*, 22, 13-18.
- Guilloux, M. (1981). Évolution des composés phénoliques de la grappe pendant la maturation du raisin. Influence des facteurs naturels. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, p 187.
- Guilloux-Bénatier, M., Guerreau, J. and Feuillat, M. (1995). Influence of initial colloid content on yeast macromolecule production and on the metabolism of wine microorganisms. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 486-492.

Références bibliographiques

- Guilloux-Bénatier, M. and Chassagne, D. (2003). Comparison of components released by fermented or active dried yeast after aging on lees on a model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 746-751.
- Hammond-Kosack, K. and Jone, J. D. G. (2000). Responses to plant pathogens. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 8, 1102-1156.
- Hancock, J. (1994). Complexing factors in sparkling wine, with particular reference to New Zealand. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, 16-18.
- Hardy, G. (1990). Le pressurage: élément primordial de la qualité des vins de base en méthode champenoise. *Revue des Œnologues*, 55, 17-25.
- Harris, J. M., Kriedemann, P. E. and Possingham, J. V. (1968). Anatomical aspects of grape berry development. *Vitis*, 7, 106-119.
- Have, A. T., Mulder, W., Visser, J. and Kan, J. A. L. V. (1998). The endopolygalacturonase gene *bcp1* is required for full virulence of *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 11, 1009-1016.
- Heredia, A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier polymer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1620, 1-7.
- Herrero, M., García L. A., and Díaz, M. (2003). The effect of SO₂ on the production of ethanol, acetaldehyde, organic acids, and flavor volatiles during industrial cider fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3455-3459.
- Hill, G., Stellwaag-Kittler, F., Huth, G. and Schlosser, E. (1981). Resistance of grapes in different developmental stages to *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopathology*, 102, 328-338.
- Hilz, H., Williams, P., Doco, T., Schols, H. A. and Voragen, A. G. J. (2006). The pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is present as a dimer in pectic populations of bilberries and black currants in muro and in juice. *Carbohydrate Polymers*, 65(4), 521-528.
- Holz, G., Coertze, S. and Williamson, B. (2007). Chapter 2 : The ecology of *Botrytis* on plant surfaces in Y. *Elad et al. (eds.), Botrytis : Biology, Pathology and Control*. Pathology and Control, 9-27, Kluwer Academic Publishers, p 428.
- Hong, Y.-S., Cilindre, C., Liger-Belair, G., Jeandet, P., Hertkorn, N. and Schmitt-Kopplin, P. (2011). Metabolic influence of *Botrytis cinerea* infection in champagne base wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7237-7245.
- Hrazdina, G., Parsons, G. F. and Mattick, L. R. (1984). Physiological and biochemical events during development and maturation of grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 35, 220-227.

Références bibliographiques

Hsu, J.-C. and Heatherbell, D. A. (1987). Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice, and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(1), 6-10.

<http://ephytia.inra.fr/fr/C/7068/Vigne-Focus-Pourriture-noble>

<http://merops.sanger.ac.uk>

https://fr.wikipedia.org/wiki/Vignoble_de_Champagne

Huang, X. M., Huang, H. B. and Wang, H. C. (2005). Cell walls of loosening skin in post-veraison grape berries lose structural polysaccharides and calcium while accumulate structural proteins. *Scientia Horticulturae*, 104, 249-263.

Hulme, A. C. (1954). Studies in the nitrogen metabolism of apple fruits. *Journal of Experimental Botany*, 5, 159-172.

Idzikowski, L. (2013). Press cycle phases and fractioning: Effects on the composition of sparkling musts and base wines. Doctoral thesis, University of Brighton, p 68.

Jackson, R. S. (2000). *Wine science principles, practice, perception*. Second Edition. Academic Press, p 645.

Jarvis, W. R. (1977). *Botrytinia and Botrytis species: taxonomy physiology and pathogenicity : a guide to the literature*. Agricultura Canada, 15, 143-158.

Jarvis, W. R., Coley-Smith, J. R. and Verhoeff, K. (1980). *The biology of Botrytis*. Academic Press. Epidemiology, p 206.

Jayasena, V. and Cameron, I. (2008). °Brix/acid ratio as a predictor of consumer acceptability of Crimson seedless table grapes. *Journal of Food Quality*, 31, 736-750.

Jeandet, P., Breuil, R. and Gautheron, B. (1991). The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42, 41-46.

Jégou, S., Conreux, A., Villaume, S., Hovasse, A., Schaeffer, C., Cilindre, C., Van Dorsselaer, A. and Jeandet, P. (2009). One step purification of the grape vacuolar invertase. *Analytica Chimica Acta*, 638, 75-78.

Jégou, S., Salmon, T., Parmentier, M., Rivero Granados, F. J., Vrigneau, C., Robillard, B., Marcelo, P., Vasserot, Y. and Marchal, R. (2014). In *Proceedings of the 3rd International Conference Wine Active Compounds, WAC 2014, Beaune, France*, R. Gougeon (ed), 87-89.

Jégou, S., Hoang, D. A., Salmon, T., Williams, P., Oluwa, S., Vrigneau, C., Doco, T. and Marchal, R. (2017). Effect of grape juice press fractioning on polysaccharide and oligosaccharide compositions of Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines. *Food Chemistry*, 232, 49-59.

Références bibliographiques

- Jigami, Y. and Odani, T. (1999). Mannosylphosphate transfer to yeast mannan. *Biochimica Biophysica Acta*, 1426, 335-345.
- Johnston, D. J. and Williamson, B. (1992). Purification and characterization of four polygalacturonases from *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*, 96(3), 343-349.
- Jones, J. E., Kerslake, F. L., Close, D. C. and Damberg, R. G. (2014). Viticulture for sparkling wine production: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65, 407-416.
- Kambiranda, D., Katam, R., Basha, S. M. and Siebert, S. (2014). iTRAQ-based quantitative proteomics of developing and ripening muscadine grape berry. *Journal of Proteome*, 13, 555-569.
- Kars, I., Krooshof, G. H., Wagemakers, L., Joosten, R., Benen, J. A. E. and Kan, J. A. L. V. (2005). Necrotizing activity of five *Botrytis cinerea* endopolygalacturonases produced in *Pichia pastoris*. *The Plant Journal*, 43, 213-225.
- Kars, I. and van Kan, J. A. L. (2007). Chapter 7 : Extracellular enzymes and metabolites involved in pathogenesis of *Botrytis* in Y. Elad *et al.* (eds.), *Botrytis : Biology, Pathology and Control*. Pathology and Control, p 428.
- Kennedy, J. (2002). Understanding grape berry development. *Practical Winery & Vineyard Journal*, 2-16.
- Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K. and Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology*, 26, 239-256.
- Klis, F. M., Boorsma, A. and De Groot, P. W. (2006). Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 23(3), 185-202.
- Kretschmer, M., Kassemeyer, H. H. and Hahn, M. (2007). Age-dependent grey mould susceptibility and tissue-specific defence gene activation of grapevine berry skins after infection by *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopathology*, 155, 258-263.
- Kunz, C., Vandelle, E., Rolland, S., Poinssot, B., Bruel, C., Cimerman, A. and Boccara, M. (2006). Characterization of a new, nonpathogenic mutant of *Botrytis cinerea* with impaired plant colonization capacity. *The New Phytologist*, 170(3), 537-550.
- Kurt, A., Torun, H., Colak, N., Seiler, G., Hayirlioglu-Ayaz, S. and Ayaz, F. A. (2017). Nutrient profiles of the hybrid grape cultivar 'Isabel' during berry maturation and ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2468-2479.
- Ky, I., Lorrain, B., Jourdes, M., Pasquier, G., Fermaud, M., Geny, L., Rey, P., Donèche, B. and Teissedre, P. L. (2012). Assessment of grey mould (*Botrytis cinerea*) impact on phenolic and sensory quality of Bordeaux grapes, musts and wines for two consecutive vintages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18, 215-226.

Références bibliographiques

- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 (5259), 680-685.
- Lao, C., Santamaria, A., López-Tamames, E., Bujan, J., Buxaderas, S. and De la Torre-Boronat, M. C. (1999). Effect of grape pectic enzyme treatment on foaming properties of white musts and wines. *Food Chemistry*, 65, 169-173.
- Lasanta, C., Caro, I., Gómez, J. and Pérez, L. (2014). The influence of ripeness grade on the composition of musts and wines from *Vitis vinifera* cv. Tempranillo grown in a warm climate. *Food Research International*, 64, 432-438.
- László, J. C. and Saayman, D. (1991). Optimum harvesting stage for Muscat seedless. *Fruit Grow*, 41, 174-178.
- Le Bourse, D., Conreux, A., Villaume, S., Lameiras, P., Nuzillard, J. M. and Jeandet, P. (2011). Quantification of chitinase and thaumatin-like proteins in grape juices and wines. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401, 1541-1549.
- Le Bourvellec, C., Bouchet, B. and Renard, C.M. (2005). Non-covalent Interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part II: Quantification and impact of cell wall drying. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1725(4), 1-9.
- Leroux, P., Fritz, R., Debieu, D., Albertini, C., Lanen, C., Bach, J., Gredt, M., Chapeland, F. and Hollomon, D. W. (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, 58, 876-888.
- Liang, S., Shakel, K., Matthews, M. A., Miller, E., Weis, N. and Thomas, T. (2005). Different growing conditions affect the firmness, diameter, sugar concentration, pH and tartaric acid (TA) on table grapes and wine grapes. *Pakistan Journal of Botany*, 44(1), 125-129.
- Liang, Z., Sang, M., Fan, P., Wu, B., Wang, L., Yang, S. and Li, S. (2011). CIELab coordinates in response to berry skin anthocyanins and their composition in *Vitis*. *Journal of Food Science*, 76(3), 490-497.
- Liners, F. and Van Cutsem, P. (1992). Distribution of pectic polysaccharides throughout walls of suspension-cultured carrot cells: an immunocytochemical study. *Protoplasma*, 170, 10-21.
- López-Barajas, M., Viu-Marco, A., López-Tamames, E., Buxaderas, S. and de la Torre-Boronat, M. C. (1997). Foaming in grape juices of white varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 2526-2529.
- López-Barajas, M., López-Tamames, E., Buxaderas, S. and de la Torre-Boronat, M. C. (1998). Effect of vinification and variety on foam capacity of wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49, 397-402.

Références bibliographiques

- López-Barajas, M., López-Tamames, E., Buxaderas, S., Suberbiola, G. and de la Torre-Boronat, M. C. (2001). Influence of wine polysaccharides of different molecular mass on wine foaming. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 146-150.
- Lopez Pinar, A., Rauhut, D., Ruehl, E. and Buettner, A. (2016). Effects of *Botrytis cinerea* and *Erysiphe necator* fungi on the aroma character of grape must: A comparative approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 207(1), 251-260.
- Lubbers, S., Bénédicte, L., Claudine, C. and Feuillat, M. (1993). Effet colloïde-protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'une solution hydro-alcoolique modèle. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 27(1), 13-22.
- Luis, E. S. (1985). A study of proteins during grape maturation, juice preparation and wine processing. Doctoral thesis, New South Wales University, p 231.
- Lund, S. T., Peng, F. Y., Nayar, T., Reid, K. E. and Schlosser, J. (2008). Gene expression analyses in individual grape (*Vitis vinifera* L.) berries during ripening initiation reveal that pigmentation intensity is a valid indicator of developmental staging within the cluster. *Plant Molecular Biology*, 68, 301-315.
- Lv, B., Yang, Q., Li, D., Liang, W. and Song, L. (2016). Proteome-wide analysis of lysine acetylation in the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *Scientific Reports*, 6, 29313.
- Maldonado, A. M., Echevarría-Zomeño, S., Jean-Baptiste, S., Hernández, M. and Jorrín-Novo, J. (2008). Evaluation of three different protocols of protein extraction for *Arabidopsis thaliana* leaf proteome analysis by two-dimensional electrophoresis. *Proteomics*, 71, 461-472.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Sarni-Manchado, P. (2006). Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Eds. Sarni-Manchado et Cheynier V., Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier.
- Manteau, S., Abouna, S., Lambert, B. and Legendre, L. (2003). Differential regulation by ambient pH of putative virulence factor secretion by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Microbiology Ecology*, 43, 359-366.
- Marangon, M., Van Sluyter, S. C., Neilson, K. A., Chan, C., Haynes, P. A., Waters, E. J. and Falconer, R. J. (2011). Roles of grape thaumatin-like protein and chitinase in white wine haze formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2), 733-740.
- Marchal, R., Bouquelet, S. and Maujean, A. (1996). Purification and partial biochemical characterization of glycoproteins in a champenois Chardonnay wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1716-1722.
- Marchal, R., Seguin, V. and Maujean, A. (1997). Quantification of interferences in the direct measurement of proteins in wines from the Champagne region using the Bradford method. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), 303-309.

Références bibliographiques

- Marchal, R., Berthier, L., Legendre, L., Marchal-Delahaut, L., Jeandet, P. and Maujean, A. (1998). Effects of *Botrytis cinerea* infection on the must protein electrophoretic characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 4945-4949.
- Marchal, R., Tabary, I., Valade, M., Moncomble, D., Viaux, L., Robillard, B. and Jeandet, P. (2001). Effects of *Botrytis cinerea* infection on Champagne wine foaming properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(14), 1371-1378.
- Marchal, R., Warchol, M., Cilindre, C. and Jeandet, P. (2006). Evidence for protein degradation by *Botrytis cinerea* and relationships with alteration of synthetic wine foaming properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), 5157-5165.
- Marchal, R., Ménissier, R., Oluwa, S., Bécart, B., Jeandet, P., Kemp, B., Foss, C. and Robillard, B. (2012). Press fractioning: Impact on Pinot noir grape juice and wine composition. *Macrowine*, Bordeaux, 18-21 juin 2012.
- Martínez-Esteso, M. J., Casado-Vela, J., Sellés-Marchart, S., Elortza, F., Pedreño, M. A. and Bru-Martínez, R. (2011). iTRAQ-based profiling of grape berry exocarp proteins during ripening using a parallel mass spectrometric method. *Molecular BioSystems*, 7, 749-765.
- Martínez-Esteso, M. J., Vilella-Antón, M. T., Pedreño, M. A., Valero, M. L. and Bru-Martínez, R. (2013). iTRAQ-based protein profiling provides insights into the central metabolism changes driving grape berry development and ripening. *Plant Biology*, 13, 167-187.
- Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Ortega Heras, M. and Pérez-Magariño, S. (2013). Changes in polysaccharide composition during sparkling wine making and aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(50), 12362-12373.
- Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B. and Pérez-Magariño, S. (2015). Role of major wine constituents in the foam properties of white and rosé sparkling wines. *Food Chemistry*, 174, 330-338.
- Martínez-Lapuente, L., Apolinar-Valiente, R., Guadalupe, Z., Ayestaran, B., Perez-Magarino, S., Williams, P. and Doco, T. (2016). Influence of grape maturity on complex carbohydrate composition of red sparkling wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(24), 5020-5030.
- Martínez-Lapuente, L., Apolinar-Valiente, R., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Pérez-Magariño, S., Williams, P. and Doco, T. (2017). Polysaccharides, oligosaccharides and nitrogenous compounds change during the ageing of Tempranillo and Verdejo sparkling wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1), 291-303.
- Martínez, F., Dubos, B. and Fermaud, M. (2005). The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Phytopathology*, 95, 692-700.
- Maumene, E. J. (1873). *Traité théorique et pratique du travail des vins, leur fabrication, leurs maladies. Fabrication des vins mousseux*. 2^e Edition entièrement refondue, Editeur Masson G., p 685.

Références bibliographiques

- Maury, C., Siret, R., Letaief, H., Symoneaux R. and Jourjon F. (2008). Un nouvel indicateur pour définir le potentiel œnologique des raisins : la maturité texturale. *Vitic*, 40(6), 359-364.
- Mayer, A. M. and Staples, R. C. (2002). Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, 60, 551-565.
- McClellan, W. D. and Hewitt, W. B. (1973). Early *Botrytis* rot of grape: Time of infection and latency of *Botrytis cinerea* Pers. in *Vitis vinifera* L. *Phytopathology*, 63, 1151-1157.
- Meier, M., Jaeckels, N., Tenzer, S., Stoll, M., Decker, H., Fronk, P., Dietrich, H. and Will, F. (2016). Impact of drought stress on concentration and composition of wine proteins in Riesling. *Food Research and Technology*, 242, 1883-1891.
- Mendgen, K. and Desing, H. (1993). Infection structures of fungal plant pathogens - a cytological and physiological evaluation. *New Phytologist*, 124, 193-213.
- Mesquita, P. R., Picarra-Pereira, M. A., Monteiro, S., Loureiro, V. B., Teixeira, A. R. and Ferreira, T. B. (2001). Effect of wine composition on protein stability. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(4), 324-330.
- Mpelasoka, S. B., Schachtman, D. P., Treeby, M. T. and Thomas, M. R. (2008). Review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(2), 154-168.
- Moine-Ledoux, V. and Dubourdiou, D. (1999). An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(4), 537-543.
- Moine-Ledoux, V. (2002). Rôle des mannoprotéines des levures vis à vis de la stabilisation tartrique des vins. *Bulletin de l'OIV*, 75, 471-482.
- Moine, V., Iturmendi, N., Murat, M. L. and Renouf, V. (2013). Stabilisation des vins rouges et rosés : Approche moléculaire et solutions pratiques – Partie 1/2 : Quelle stabilité ? *Revue des Œnologues*, 146, 38-40.
- Monteiro, S., Picarra-Pereira, M. A., Loureiro, V. B., Teixeira, A. R. and Ferreira, R. B. (2007). The diversity of pathogenesis-related proteins decreases during grape maturation. *Phytochemistry*, 513(68), 416-425.
- Moreno-Arribas, V., Pueyo, E., Nieto, F. J., Martín-Álvarez, P. J. and Polo, M. C. (2000). Influence of the polysaccharides and the nitrogen compounds on foaming properties of sparkling wines. *Food Chemistry*, 70, 309-317.
- Movahedi, S. and Heale, J. B. (1990). The roles of aspartic proteinase and endo-pectin lyase enzyme in the primary stages of infection and pathogenesis of various host tissues by different isolates of *Botrytis cinerea* Pers ex. Pers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 36, 303-324.

Références bibliographiques

- Mullins, M. G., Bouquet, A. and Williams, L. E. (1992). Biology of the grapevine. Biology of horticultural crops. Cambridge University Press, p 147.
- Murphey, J. M., Spayd, S. E. and Powers, J. R. (1989). Effect of grape maturation on soluble protein characteristics of Gewurztraminer and white Riesling juice and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40(3), 199-207.
- Negri, A. S., Prinsi, B., Rossini, M., Failla, O., Scienza, A. and Cocucci, M. (2008). Proteome changes in the skin of the grape cultivar Barbera among different stages of ripening. *Genomics*, 9, 378-396.
- Negri, A. S., Robotti, E., Prinsi, B., Espen, L. and Marengo, E. (2011). Proteins involved in biotic and abiotic stress responses as the most significant biomarkers in the ripening of Pinot noir skins. *Functional & Integrative Genomics*, 11, 341-355.
- Neuhoff, V., Stamm, R. and Eibl, H. (1985). Clear background and highly sensitive protein staining with Coomassie blue dyes in polyacrylamide gels: A systematic analysis. *Electrophoresis*, 6(9), 427-448.
- Noda, J., Brito, N. and Gonzalez, C. (2010). The *Botrytis cinerea* xylanase Xyn11A contributes to virulence with its necrotizing activity, not with its catalytic activity. *Plant Biology*, 10(38), 1471-2229.
- Nunan, K. J., Sims, I. M., Bacic, A., Robinson, S. P. and Fincher G. B. (1998). Changes in cell wall composition during ripening of grape berries. *Plant Physiology*, 118(3), 783-792.
- Ollat, N., Diakou-Verdin, P., Carde, J., Barrieu, F., Gaudillère J. and Moing, A. (2002). Grape berry development: A review. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 36, 109-131.
- O'Neill, M. A., Ishii, T., Albersheim, P. and Darvill, A. G. (2004). Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annual Review of Plant Biology*, 55(3), 109-139.
- Ojeda, H., Deloire, A., Carbonneau, A., Ageorges, A. and Romieu, C. (1999). Berry development of grapevines: Relations between the growth of berries and their DNA content indicate cell multiplication and enlargement. *Vitis*, 38(4), 145-150.
- Olejar, K. J., Fedrizzi, B. and Kilmartin, P. A. (2015). Antioxidant activity and phenolic profiles of Sauvignon blanc wines made by various maceration techniques. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1), 57-68.
- Ollat, N. and Gaudillère, J. P. (1996). Investigation of assimilate import mechanisms in berries of *Vitis vinifera* var. "Cabernet Sauvignon". *Acta Horticulturae*, 427(5), 141-149.

Références bibliographiques

Ortega-Regules, A., Romero-Cascales, I., Ros-García, J. M., López-Roca, J. M. and Gómez-Plaza, E. (2006). A first approach towards the relationship between grape skin cell-wall composition and anthocyanin extractability. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2), 26-32.

Park, H. S. and Darné, G. (1996). Évolution des pigments chlorophylliens des baies de *Vitis vinifera* L. au cours de leur développement. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, numéro hors série « La viticulture à l'aube du III^e millénaire », 75-77.

Pasquier, G., Lapailleur, D., Vilain, S., Dupuy, J. W., Lomenech, A. M. and Claverol, S. (2013). Impact of foliar symptoms of “Esca proper” on proteins related to defense and oxidative stress of grape skins during ripening. *Proteomics*, 13, 108-118.

Pasquier, G. (2014). Le potassium: un élément déterminant de la vivacité des vins. *Vin*, 263, 51-53.

Pasteur, L. (1873). Etudes sur le vin, ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour le conserver et le vieillir. *Vin, Fermentation*, 426.

Patel, P., Herbst-Johnstone, M., Lee, S. A., Gardner, R. C., Weaver, R., Nicolau, L. and Kilmartin, P. A. (2010). Influence of juice pressing conditions on polyphenols, antioxidants, and varietal aroma of Sauvignon blanc microferments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7280-7288.

Pellerin, P., Vidal, S., William, P. and Brillouet, J. M. (1995). Characterization of five type II arabinogalactan-protein fractions from red wine of increasing uronic acid content. *Carbohydrate Research*, 277, 135-143.

Peer, W.A., Brown, D.E., Tague, B.W., Muday, G.K., Taiz, L. and Murphy, A. S. (2001). Flavonoid accumulation patterns of transparent testa mutants of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 126(3), 536-548.

Penso, G. A., Citadin, I., Maro, L. A. C., Scarioto, S., Chicock, A. and Ambrosio, R. (2014). Study of the maturation of grapes (*Vitis vinifera* L.) grown in Dois Vizinhos, Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(6), 3085-3098.

Perez-Magarino, S. and Gonzalez-San Jose, M. L. (2004). Evolution of flavanols, anthocyanins, and their derivatives during the aging of red wines elaborated from grapes harvested at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1181-1189.

Périgord, A. B. (1825). *Nouvel Almanach des gourmants dédié au ventre*. Baudouin Frères, p 238.

Perret, C., Pezet, R. and Tabacchi, R. (2003). Qualitative analysis of grapevine tannins by mass spectrometry and their inhibitory effect on stilbene oxidase of *Botrytis cinerea*. *Chimia*, 57, 607-610.

Peynaud, E. and Ribéreau-Gayon, G. P. (1971). The grape. In : *The biochemistry of fruits and their products*. Food Science and Technology, Academic Press, p 620.

Références bibliographiques

- Pezet, R. and Pont, V. (1986). Floral infection and latency of *Botrytis cinerea* in grape clusters of *Vitis vinifera* (var. Gamay). *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture*, 18(5), 317-322.
- Pezet, R., Pont, V. and K., H.-V. (1991). Evidence for oxidative detoxication of pterostilbene and resveratrol by a laccase-like stilbene oxidase produced. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 39, 441-450.
- Pezet, R. and Pont, V. (1992). Differing biochemical and histological studies of two grape cultivars in the view of their respective susceptibility and resistance to *Botrytis cinerea*. In K. Verhoeff, N. E. Malathrakis, B. Williamson (Eds.), *Recent advances in Botrytis Research, 1992*, pp. 93-98 *Proceedings of the 10 International Botrytis Symposium*, Heraklion, Crete, Greece.
- Pezet, R., Viret, O., Perret, C. and Tabacchi, R. (2003). Latency of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. and biochemical studies during growth and ripening of two grape berry cultivars, respectively susceptible and resistant to grey mould. *Phytopathology*, 151(6), 208-214.
- Pezet, R., Viret, O. and Gindro, K. (2004). Plant-microbe interaction: the *Botrytis* grey mould of grape-biology, biochemistry, epidemiology and control management. *Advances in Plant Physiology*, 7(3), 71-116.
- Pilati, S., Perazzolli, M., Malossini, A., Cestaro, A., Dematte, L. and Fontana, P. (2007). Genome-wide transcriptional analysis of grapevine berry ripening reveals a set of genes similarly modulated during three seasons and the occurrence of an oxidative burst at véraison. *Genomics*, 8(5), 428-450.
- Pirie, A. and Mullins, M. G. (1976). Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. *Plant Physiology*, 58, 468-472.
- Pirie, A. J. G. and Mullins, M. G. (1980). Concentration of phenolics in the skin of grape berries during fruit development and ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31(2), 34-36.
- Pocock, K. F., Hayasaka, Y., McCarthy, M. G. and Waters, E. J. (2000). Thaumatin-like proteins and chitinases, the haze-forming proteins of wine, accumulate during ripening of grape (*Vitis vinifera*) berries and drought stress does not affect the final levels per berry at maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1637-1643.
- Possner, D. R. E. and Kliewer, W. M. (1985). The localization of acids, sugars, potassium, and calcium in developing grape berries. *Vitis*, 24(3), 229-240.
- Pratt, C. (1971). Reproductive anatomy in cultivated grapes - a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 22(2), 92-109.
- Pueyo, E., Martín-Alvarez, J. and Polo, M. C. (1995). Relationship between foam characteristics and chemical composition in wines and cava (sparkling wines). *American Journal of Enology and Viticulture*, 46, 518-524.

Références bibliographiques

- Quijada Morín, N., Williams, P., Rivas Gonzalo, J. C., Doco, T. and Escribano-Bailón, M. T. (2014). Polyphenolic, polysaccharide and oligosaccharide composition of Tempranillo red wines and their relationship with the perceived astringency. *Food Chemistry*, 154(1), 44-51.
- Rawlings, N. D. (2010). Peptidase inhibitors in the MEROPS database. *Biochimie*, 92(11), 1463-1483.
- Rawlings, N. D., Barrett, A. J. and Bateman, A. (2012). MEROPS: the database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Research*, 40(3), 343-350.
- Rees, D. A. (1982). Polysaccharide conformation in solution and gels. Recent results on pectins. *Carbohydrates Polymers*, 2(2), 254-263.
- Reignault, P., Kunz, C., Delage, N., Moreau, E., Vedel, R., Hamada, W., Bompeix, G. and Boccara, M. (2000). Host and symptom specific pectinase isozymes produced by *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*, 104(4), 421-428.
- Reignault, P., Collet, O. V. and Boccara, M. (2008). The importance of fungal pectinolytic enzymes in plant invasion, host adaptability and symptom type. *European Journal of Plant Pathology*, 120(3), 1-11.
- Rienth, M., Torregrosa, L., Luchaire, N., Chatbanyong, R., Lecourieux, D., Kelly, M. T., Romieu, C. (2014). Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*vitis vinifera*) fruit. *BMC Plant Biology*, 14(1), 2-18.
- Reis, H., Pfiffi, S. and Hahn, M. (2005). Molecular and functional characterization of a secreted lipase from *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, 6(3), 257-267.
- Reynier, A. (2012). Manuel de viticulture - guide technique du viticulteur. 11e édition. Coll. Cave & Terroir. Tec et Doc, Editions Lavoisier, p 592.
- Ribéreau-Gayon, P. (1988). *Botrytis* : Advantages and disadvantages for producing quality wines. Proceedings of the Second International Cool Climate Viticulture and Oenology Symposium, Auckland, New Zealand, 319-323.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdiou, D. (1998). Traité d'œnologie - 2. Chimie du vin stabilisation et traitements. 1^{ère} édition. Editions Dunod, La Vigne, 19-49.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiou, D., Donèche, B. and Lonvaud, A. (2004). Traité d'œnologie, Pratiques vitivinicoles, 661. 5e édition. Editions Dunod, La Vigne, p 519.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiou, D., Donèche, B. and Lonvaud, A. (2012). Traité d'œnologie, Pratiques vitivinicoles, 605. 6e édition. Editions Dunod, La Vigne, p 504.
- Ringot, D., Lerzy, B., Bonhoure, J. P., Auclair, E., Oriol, E. and Larondelle, Y. (2005). Effect of temperature on in vitro ochratoxin A biosorption onto yeast cell wall derivatives. *Process Biochemistry*, 40(9), 3008-3016.

Références bibliographiques

Robinson, S. P., Jacobs, A. K. and Dry, I. B. (1997). A class IV chitinase is highly expressed in grape berries during ripening. *Plant Physiology*, 114(3), 771-778.

Robinson, S. P. and Davies, C. (2000). Molecular biology of grape berry ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2), 175-188.

Rodríguez Vaquero, M.J., Alberto, M.R. and Manca de Nadra, M.C. (2007). Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18 (1), 587-593.

Rolke, Y., Liu, S., Auidde, T., Williamson, B., Schouten, A., Weltring, K. W., Siewers, V., Tenberge, K. B., Tudzynski, B. and Tudzynski, P. (2004). Functional analysis of H₂O₂-generating system in *Botrytis cinerea*: the major Cu-Zn-superoxide dismutase (BCSOD1) contributes to virulence on French bean; whereas a glucose oxidase (BCGOD1) is dispensable. *Molecular Plant Pathology*, 5(1), 17-27.

Rosi, I., Gheri, A., Domizio, P. and Fia, G. (2000). Production de macromolécules pariétales de *Saccharomyces cerevisiae* au cours de la fermentation et leur influence sur la fermentation malolactique. *Revue des Oenologues*, 94, 18-20.

Rosi, I. and Giovani, G. (2003). Effect of some winemaking variables on the production of exopolysaccharides by *Saccharomyces cerevisiae* In Book 7th International Symposium of Oenology, Lonvaud-Funel, A.. Editions Tec and Doc, p 354, 324-328.

Rosli, H. G., Civello, P. M. and Martinez, G. A. (2004). Changes in cell wall composition of three *Fragaria*×*ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(2), 823-831.

Rotter, B. (2004). <http://www.brsquared.org/wine>.

Roubelakis-Angelakis, K. A. (2002). Molecular biology & biotechnology of the grapevine. *Plant Science*, 162(2), 853-854.

Ruffner, H. P., Geissmann, M. and Rast, D. M. (1992). Plant and fungal invertases in grape berries infected with *Botrytis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 40, 181-189.

Ruffner, H. P., Hürlimann, M. and Skrivan, R. (1995). Soluble invertase from grape berries: purification, deglycosylation and antibody specificity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33, 25-31.

Ruiz, E. and Ruffner, H. P. (2002). Immunodetection of *Botrytis*-specific invertase in infected grapes. *Journal of Phytopathology*, 150, 76-85.

Ryan, J. M. and Revilla, E. (2003). Anthocyanin composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3372-3378.

Références bibliographiques

Sablayrolles, J. M. and Salmon, J. M. (2009). Déroulement et contrôle de la fermentation. In: Le vin rosé. Editions Féret, p 336.

Sarni-Manchado, P. and Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Londres, Paris, New York: Tec & Doc, Lavoisier.

Sarry, J. E., Sommerer, N., Sauvage, F. X., Bergoin, A., Rossignol, M., Albagnac, G. and Romieu, C. (2004). Grape berry biochemistry revisited upon proteomic analysis of the mesocarp. *Proteomics*, 4(1), 201-215.

Saucier, C. (1997). Les tanins du vin : étude de leur stabilité colloïdale. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, p 185.

Saulnier, L. and Brillouet, J. M. (1989). An arabinogalactan-protein from the pulp of grape berries. *Carbohydrate Research*, 188, 137-144.

Saulnier, L., Mercereau, T. and Vezinhet, F. (1991). Mannoproteins from flocculating and non-flocculating *Saccharomyces cerevisiae* yeasts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54, 275-286.

Sauvage, F., Bach, B., Moutounet, M. and Vernhet, A. (2010). Proteins in white wines: Thermosensitivity and differential adsorption by bentonite. *Food Chemistry*, 118(1), 26-34.

Sbaghi, M., Jeandet, P., Bessis, R. and Leroux, P. (1996). Degradation of stilbene-type phytoalexins in relation to the pathogenicity of *Botrytis cinerea* to grapevines. *Plant Pathology*, 45, 139-144.

Schaller, K. (1999). Influence of different soil tillage systems on uptake of N, P, K, Mg, Ca and organic N-compounds by grape berries during growth and development of the variety "white Riesling". Institut of Biology, Department of Soil Science and Plant Nutrition. *Bulletin de l'O.I.V.*, 823-824.

Schmauch, G. (2010). Interactions tanins protéines en œnologie. Thèse de Doctorat, Université Victor Segalen Bordeaux 2, p 173.

Schmidt, S. A., Tan, E. L., Brown, S., Nasution, U. J., Pettolino, F., Macintyre, O. J., De Barros Lopes, M., Waters, E. J. and Anderson, P. A. (2009). Hpf2 glycan structure is critical for protection against protein haze formation in white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 3308-3315.

Somers, T. C. (1976). Pigment profiles of grapes and wines. *Vitis*, 7, 303-320.

Soufleros, E. and Bertrand, A. (1998). Evaluation d'une méthode CLHP adaptée au dosage des acides aminés du vin. *Vitis*, 37(1), 43-53.

Références bibliographiques

- Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L. and Ferguson, J. C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(3), 171-182.
- Szczesniak, A. S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13(2002), 215-225.
- Tattersall, D. B., van Heeswijck, R. and Høj, P. B. (1997). Identification and characterization of a fruit-specific, thaumatin-like protein that accumulates at very high levels in conjunction with the onset of sugar accumulation and berry softening in grapes. *Plant Physiology*, 114(3), 759-769.
- Terrier, N., Glissant, D. and Grimplet, J. (2005). Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development. *Planta*, 222, 832-847.
- Thibault, J.-F., Saulnier, L., Axelos, M.A.V. and Renard, C. M. G. C. (1991). Difficultés expérimentales de l'étude des macromolécules pectiques, *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 138(3-4), 319-337.
- Topalovic, A. and Mikulic-Petkovsek, M. (2010). Changes in sugars, organic acids and phenolics of grape berries of cultivar Cardinal during ripening, 8(2), 223-227.
- Tusseau, D. and Laer, S. V. (1993). Macromolecules in wines of Champagne. *Science des Aliments*, 13(3), 463-482.
- Tusseau, D., Valade, M., Descôtes, A. (2017). Les moûts de 2016. *Le Vigneron Champenois*, 5, 12-19.
- Valade, M. and Blanck, G. (1989). Évolution des paramètres analytiques au cours du pressurage en Champagne. *Revue Française d'Oenologie*, 118, 23-27
- van Loon, L. C., Rep, M. and Pieterse, C. M. J. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44(1), 135-162.
- Valette Collet, O., Cimerman, A., Reignault, P., Levis, C. and Boccara, M. (2003). Disruption of *Botrytis cinerea* pectin methylesterase gene *bcpme1* reduces virulence on several host plants. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 16, 360-367.
- Van Kan, J. A. L., Klooster, J. W. V., Wagemakers, C. A. M., Dees, D. C. T. and Vlugt-Bergmans, C. J. B. V. D. (1997). Cutinase A of *Botrytis cinerea* is expressed, but not essential, during penetration of gerbera and tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10, 30-38.
- Van Kan, J. A. L. (2006). Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. *Trends in Plant Science*, 11(5), 247-253.
- Vauzour, D. (2010). Etude des propriétés biologiques des constituants des vins de Champagne. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier 1, p 231.

Références bibliographiques

Véron, M. (2011). Œnologie : lexique du vin. Edition 2011, Collectif Photo Reims, p 165.

Vicens, A., Fournand, D., Williams, P., Sidhoum, L., Moutounet, M. and Doco, T. (2009). Changes in polysaccharide and protein composition of cell walls in grape berry skin (Cv. Shiraz) during ripening and over-ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(7), 2955-2960.

Vidal, S., Doco, T., Moutounet, M. and Pellerin, P. (2000). Soluble polysaccharide content at initial time of experimental must preparation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(2), 115-121.

Vidal, S., Williams, P., O'Neill, M. A. and Pellerin, P. (2001). Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I: Tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 45(4), 315-323.

Vidal, S., Williams, P., Doco, T., Moutounet, M. and Pellerin, P. (2003). The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 54(4), 439-447.

Vincenzi, S., Mosconi, S., Zoccatelli, G., Pellegrina, C. D., Veneri, G., Chignola, R., Peruffo, A., Curioni, A. and Rizzi, C. (2005). Development of a new procedure for protein recovery and quantification in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(2), 182-187.

Vincenzi, S., Marangon, M., Tolin, S. and Curioni, A. (2011). Protein evolution during the early stages of white winemaking and its relations with wine stability. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17, 20-27.

Vincenzi, S., Crapisi, A. and Curioni, A. (2014). Foamability of Prosecco wine: cooperative effects of high molecular weight glyco-compounds and wine PR-proteins. *Food Hydrocolloids*, 34(519), 202-207.

Vincenzi, S., Crapisi, A. and Curioni, A. (2014). Foamability of Prosecco wine: cooperative effects of high molecular weight glyco-compounds and wine PR-proteins. *Food Hydrocolloids*, 34(519), 202-207.

Vincken, J. P., Schols, H. A., Oomen, R., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G. J. and Visser, R. G. F. (2003). If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132(4), 1781-1789.

Viret, O., Peret, R., Cole, M. and Keller, M. (2001). Latency, disease incidence and localization of *Botrytis cinerea* Pers. during the early stages of bloom infection of grapes. *Proceedings of the 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, 276-278.

Viret, O., Keller, M., Jaudzems, V. G. and Cole, F. M. (2004). *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology*, 94(8), 850-857.

Viret, O., Bloesch, B., Duduis, P.-H. and Gindro, K. (2010). Epidémiologie de *Botrytis cinerea* et stratégies de lutte. *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 42(3), 162-167.

Références bibliographiques

- Viterbo, A., Yagen, B. and Mayer, A. M. (1992). Cucurbitacins, 'attack' enzymes and laccase in *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry*, 32(1), 61-65.
- Voegele, R. T., Wirsal, S., Möll, U., Leechner, M. and Mendgen, K. (2006). Cloning and characterization of a novel invertase from the obligate biotroph *Uromyces fabae* and analysis of expression patterns of host and pathogen invertases in the course of infection. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 19, 625-634.
- Wang, X.-J., Tao, Y.-S., Wu, Y., An, R.-J. and Yue, Z.-Y. (2017). Aroma compounds and characteristics of noble-rot wines of Chardonnay grapes artificially botrytized in the vineyard. *Food Chemistry*, 226, 41-50.
- Waters, E. J., Pellerin, P. and Brillouet, J. M. (1994). A *Saccharomyces* mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydrate Polymers*, 23(3), 185-191.
- Waters, E. J., Shirley, N. J. and Williams, P. J. (1996). Nuisance proteins of wine are grape pathogenesis-related proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 3-5.
- Waters, E. J. and Colby, C. B. (2009). *Proteins In Wine chemistry and biochemistry*, Elizabeth Joy Waters and Christopher Bruce Colby, p 230.
- Willats, W. G. T., Orfila, C., Limberg, G., Buchholt, H. C., Van Alebeek, G. J. W. M., Voragen, A. G. J., Marcus, S. E., Christensen, T. M. I. E., Mikkelsen, J. D., Murray, B. S. and Knox, P. J. (2001). Modulation of the degree and pattern of methyl-esterification of pectic homogalacturonan in plant cell walls. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 19404-19413.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P. and Kan, J. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561-580.
- Winkler, A., Cook, J., Lider, J. A. and Kliwer, W. M. (1974). *General viticulture*. University of California Press; Revised & enlarged edition, p 710.
- Yokotsuka, K. (1990). Effect of press design and pressing pressures on grape juice components. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 70, 15-21.
- Zenoni, S., Ferrarini, A., Giacomelli, E., Xumerle, L., Fasoli, M. and Malerba, G. (2010). Characterization of transcriptional complexity during berry development in *Vitis vinifera* using RNA-Seq. *Plant Physiology*, 152, 1787-1795.
- Zsófi, Z., Tóth, E., Rusjan, D. and Bálo, B. (2009). Terroir aspects of grape quality in a cool climate wine region: relationship between water deficit, vegetative growth and berry sugar concentration. *Scientia Horticulturae*, 127(4), 494-499.

ANNEXES



Effect of grape juice press fractioning on polysaccharide and oligosaccharide compositions of Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines



Sandrine Jégou^{a,*}, Duc An Hoang^a, Thomas Salmon^a, Pascale Williams^b, Solomen Oluwa^a, Céline Vrigneau^c, Thierry Doco^b, Richard Marchal^a

^aLaboratoire d'Enologie et Chimie Appliquée, URVVC EA 4707, Université de Reims Champagne-Ardenne, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France

^bINRA, UMR n°1083, Sciences Pour l'Enologie, 2 Place Pierre Viala, 34060 Montpellier, France

^cInstitut Enologique de Champagne, 9 Rue du Commerce, 51350 Cormontreuil, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 October 2016

Received in revised form 2 March 2017

Accepted 7 March 2017

Available online 8 March 2017

Keywords:

Champagne wine

Press fractioning

Polysaccharides

Oligosaccharides

Grape juice

Chardonnay

Pinot meunier

ABSTRACT

Press fractioning is an important step in the production of sparkling base wines to segregate the grape juices with different qualities. Grape juice fractions were collected during the pressing cycle at industrial and laboratory scales. The Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines obtained from the free-run juice and the squeezed juices exhibited strong differences from the beginning to the last step of pressing cycle for numerous enological parameters. Significant changes in polysaccharide (PS) and oligosaccharide (OS) base wine composition and concentration were found as the pressing cycle progressed. During the pressing cycle, the total PS concentration decreased by 31% (from 244 to 167 mg/L) and 32% (from 201 to 136 mg/L) in the Pinot meunier and Chardonnay wines respectively. The wine OS amounts varied between 97 and 139 mg/L. The polysaccharide rich in arabinose and galactose (39–54%) and mannoproteins (38–55%) were the major PS in the base wines.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The separation of different grape juice fractions during the pressing cycle is considered as the most important step to control sparkling base wine quality. The aim of the grape juice press fractioning for sparkling wine production such as Champagne is to segregate the grape juice with different qualities and characteristics such as total acidity, pH, phenolic content, coarseness, herb aroma, color and oxidation level. A complete pressing cycle for this style of wine is a series of pressure increases/decreases and pomace break-up resulting in a considerable variation in juice composition occurring throughout the pressing cycle (Blanck & Valade, 1989; Hardy, 1990; Marchal et al., 2012).

Considering the current rules for pressing in Champagne production, grape juice extraction is strictly limited to 25.5 hectoliters, after settling, per 4000 kg marc (traditional unit of measurement for a press-load with whole bunches). In the Champagne region, the law dictates that the grape juice obtained has to be separated

in two tanks, according to quality: the first quality juice (the "Cuvée", representing 20.5 hL) and the second quality juice (the "Tailles", representing generally the last 5 hL extracted and corresponding to the first "Taille" and the second "Taille").

Beyond the legal rules of volumetric press fractioning ("Cuvée" 80.4% vol and "Tailles" 19.6% vol), many winemakers adapt juice fractioning that takes into account 1) the grape quality (maturity, juice extraction capacity, millerandage, oxidasic "casse" sensitivity, grape variety) and 2) the type of press (4000 kg traditional press with horizontal plate, 4000, 8000 or 12000 kg pneumatic presses), according to the wine they want to produce (fruity wines, wines to be aged on lees or in barrels before "tirage", wines produced from blending different years (non-vintage traditional Champagne wines) or vintage wines).

Today, most champagne presses are equipped with two tanks per press to separate the "Cuvée" and the "Tailles". However, many winemakers install three and exceptionally four tanks to achieve a better juice fractioning. For about 15–20 years, some winemakers separate the auto-pressed juice (free-run juice released during the loading of the press) from the "Cuvée". This auto-press juice is of a low quality and is generally blended with the "Tailles". Some winemakers allocate the "Cuvée" to two stainless steel tanks. This

* Corresponding author.

E-mail address: sandrine.jegou@univ-reims.fr (S. Jégou).

spectroscopy that confirmed a positive relationship between OS and astringency.

Nevertheless, the impact of the pressing cycle on wine PS and OS fractions has not been studied at commercial or laboratory scale. The aim of this work with Pinot meunier and Chardonnay wines (vintage 2013 and 2014 respectively from Champagne) was to investigate wine OS and PS compositions, contents, and changes due to grape juice fractioning.

2. Materials and methods

2.1. Grape juices and white base wines

Pinot meunier and Chardonnay grapes were hand harvested at technological maturity level from the Champagne production zone, where the Pinot meunier and the Chardonnay represent 35% and 27% of AOC vineyard area respectively. Six Pinot meunier grape juice fractions (vintage 2013 – PM 13; Champagne region – France) were collected during the pressing cycle (8000 kg pneumatic press) from whole grape bunches without destemming. Juices were collected at the middle of each squeeze *S*, i.e. at 600 mBars for S1, S2 and S3, and at 800 mBars for S4 and S5 (Supp. Fig. S1). Five Chardonnay grape juice fractions (vintage 2014 – CH 14; Champagne region – France) were collected from a 6 kg laboratory press. The volume extracted for the grape juice of each squeeze was expressed by the ratio of total extracted juice volume per 8000 kg or 6 kg marc of Pinot meunier and Chardonnay grapes before settling (% v/w). The eleven fractions (AP = auto-pressing and *S* = squeeze juice) were vinified separately in 1.5 L bottles. No treatment with pectinolytic commercial enzymes was applied during pressing. The juices were inoculated with *S. cerevisiae* var. *bayanus* (active dry yeast, IOC 18-2007, Institut Oenologique de Champagne, Epernay, France) at 18 °C. Sulfur dioxide was added at a rate of 6 g/hL after alcoholic fermentation to avoid malolactic fermentation. Wines were centrifuged (17,000g, 10 min), stored one month at controlled cellar temperature (11 °C) and 2 months at 4 °C then filtered to remove insoluble colloidal particles and tartrate crystals.

2.2. Enological analysis

The analytical methods recommended by the Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (International Organization of Vine and Wine – O.I.V. Paris, France, 2009) were used to determine the pH, total acidity (g/L H₂SO₄), sugar content (g/L), malic acid (g/L), tartaric acid (g/L), potassium (mg/L), calcium (mg/L), alcohol content (%v/v) and gluconic acid (mg/L) of the grape juices and base wines.

An ATP 3000 potentiometer (ISITEC-LAB, Montauban, France) was used to determine the pH and total acidity. Total acidity was determined by NaOH titration, using bromothymol blue as an indicator, and results were expressed as g/L of sulphuric acid. The malic acid, tartaric acid, potassium, calcium, and gluconic acid contents were determined using a UV-visible Hitachi 911 sequential analyzer (Roche Diagnostics, Meylan, France). The gluconic acid content, a chemical index currently used to estimate the level of *Botrytis cinerea* infection, and malic acid content were enzymatically assayed and results were expressed as mg/L and g/L respectively. The alcohol content was determined by near-infrared spectrometry with a SpectraAlyser (Zeutech GmbH, Rendsburg, Germany). A Anton Paar DMA 48 Density Meter (Anton Paar, Courtaboeuf, France) was used to analyze sugar content which is calculated according to the mass per volume unit and expressed as g/L.

2.3. Isolation of PS and OS fractions

Wine PS and OS fractions were isolated as previously described (Apolinar Valiente, Romero Cascales, et al., 2014; Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Boulet et al., 2016; Ducasse et al., 2010; Quijada Morín et al., 2014). Briefly, white base wines (5 mL) were partially depigmented by discoloration on a MN Polyamide SC6 column. Wine PS and OS not retained on the polyamide column were eluted by 2 bed volumes of 1 M NaCl. High-resolution size exclusion chromatography was performed on a Superdex 30-HR column (60 × 1.6 cm, Pharmacia, Sweden). Two fractions were collected according to elution time between 41 and 65 min and between 66 and 93 min for PS and OS respectively. The isolated fractions were freeze-dried, re-dissolved in water and freeze-dried four times to completely remove the ammonium formate salt. These fractions corresponded to the PS and OS fractions of Pinot meunier and Chardonnay base wines.

2.4. Analysis of PS

Neutral monosaccharides were released after hydrolysis of the wine PS by treatment with 2 M trifluoroacetic acid (75 min at 120 °C) (Albersheim, Nevins, English, & Karr, 1967). They were then converted to the corresponding alditol acetate derivatives by reduction and acetylation, and quantified by gas chromatography (GC) analysis using a fused silica DB-225 (210 °C) capillary column (30 m × 0.32 mm i.d., 0.25 μm film), with hydrogen as the carrier gas, on a Shimadzu GC-2010plus gas chromatograph. The different alditol acetates were identified from their retention times by comparison with standard monosaccharides. Neutral sugar amounts were calculated relative to the internal standard. Allose and myo-inositol were used as internal standards.

2.5. PS concentration

The calculation of base wine PS concentrations took into account the composition of characteristic monosaccharides as well as the hydrolysis yield as previously described for wine PS compositions (Doco, Quéllec, Moutounet, & Pellerin, 1999; Vidal et al., 2001). The concentrations of MPs, PRAGs, and RG-II were estimated from the concentration of individual glycosyl residues, as determined by GC after hydrolysis, reduction, and acetylation (Doco et al., 1999). All mannoses were attributed to yeast MPs. The PRAGs were estimated from the sum of galactose and arabinose residues. RG-II was calculated from the concentrations of 2-O-methyl-fucose and 2-O-methyl-xylose.

2.6. Sugar composition of OS fractions as trimethylsilyl (TMS) derivatives

The neutral and acidic glycosyl residues of isolated OS fractions were undergone to solvolysis with anhydrous MeOH containing 0.5 M HCl for 16 h at 80 °C, followed by per-O-trimethylsilylation of the methyl glycoside derivatives (Guadalupe et al., 2014; Quijada Morín et al., 2014). The TMS derivatives were separated on two DB-1 capillary columns (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film) (temperature programming 120–200 °C at 1.5 °C/min), coupled to a single injector inlet through a two-holed ferrule, with H₂ as the carrier gas on a Shimadzu GCMS-QP2010SE gas chromatograph. The outlet of one column was directly connected to a FID at 250 °C and the second column was connected to a mass detector via a deactivated fused-silica column (0.25 m × 0.11 μm i.d.). Samples were injected in the pulsed split mode with a split ratio of 20:1. The transfer line to the mass was set at 280 °C. ESI mass spectra were obtained from *m/z* 50 to 400 every 0.2 s in the total ion-monitoring mode using an ion source temperature of 200 °C,

spectroscopy that confirmed a positive relationship between OS and astringency.

Nevertheless, the impact of the pressing cycle on wine PS and OS fractions has not been studied at commercial or laboratory scale. The aim of this work with Pinot meunier and Chardonnay wines (vintage 2013 and 2014 respectively from Champagne) was to investigate wine OS and PS compositions, contents, and changes due to grape juice fractioning.

2. Materials and methods

2.1. Grape juices and white base wines

Pinot meunier and Chardonnay grapes were hand harvested at technological maturity level from the Champagne production zone, where the Pinot meunier and the Chardonnay represent 35% and 27% of AOC vineyard area respectively. Six Pinot meunier grape juice fractions (vintage 2013 – PM 13; Champagne region – France) were collected during the pressing cycle (8000 kg pneumatic press) from whole grape bunches without destemming. Juices were collected at the middle of each squeeze S, i.e. at 600 mBars for S1, S2 and S3, and at 800 mBars for S4 and S5 (Supp. Fig. S1). Five Chardonnay grape juice fractions (vintage 2014 – CH 14; Champagne region – France) were collected from a 6 kg laboratory press. The volume extracted for the grape juice of each squeeze was expressed by the ratio of total extracted juice volume per 8000 kg or 6 kg marc of Pinot meunier and Chardonnay grapes before settling (% v/w). The eleven fractions (AP = auto-pressing and S = squeeze juice) were vinified separately in 1.5 L bottles. No treatment with pectinolytic commercial enzymes was applied during pressing. The juices were inoculated with *S. cerevisiae* var. *bayanus* (active dry yeast, IOC 18-2007, Institut Oenologique de Champagne, Epernay, France) at 18 °C. Sulfur dioxide was added at a rate of 6 g/hL after alcoholic fermentation to avoid malolactic fermentation. Wines were centrifuged (17,000g, 10 min), stored one month at controlled cellar temperature (11 °C) and 2 months at 4 °C then filtered to remove insoluble colloidal particles and tartrate crystals.

2.2. Enological analysis

The analytical methods recommended by the Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (International Organization of Vine and Wine – O.I.V. Paris, France, 2009) were used to determine the pH, total acidity (g/L H₂SO₄), sugar content (g/L), malic acid (g/L), tartaric acid (g/L), potassium (mg/L), calcium (mg/L), alcohol content (%v/v) and gluconic acid (mg/L) of the grape juices and base wines.

An ATP 3000 potentiometer (ISITEC-LAB, Montauban, France) was used to determine the pH and total acidity. Total acidity was determined by NaOH titration, using bromothymol blue as an indicator, and results were expressed as g/L of sulphuric acid. The malic acid, tartaric acid, potassium, calcium, and gluconic acid contents were determined using a UV-visible Hitachi 911 sequential analyzer (Roche Diagnostics, Meylan, France). The gluconic acid content, a chemical index currently used to estimate the level of *Botrytis cinerea* infection, and malic acid content were enzymatically assayed and results were expressed as mg/L and g/L respectively. The alcohol content was determined by near-infrared spectrometry with a SpectraAlyser (Zeutech GmbH, Rendsburg, Germany). An Anton Paar DMA 48 Density Meter (Anton Paar, Courtaboeuf, France) was used to analyze sugar content which is calculated according to the mass per volume unit and expressed as g/L.

2.3. Isolation of PS and OS fractions

Wine PS and OS fractions were isolated as previously described (Apolinar Valiente, Romero Cascales, et al., 2014; Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Boulet et al., 2016; Ducasse et al., 2010; Quijada Morín et al., 2014). Briefly, white base wines (5 mL) were partially depigmented by discoloration on a MN Polyamide SC6 column. Wine PS and OS not retained on the polyamide column were eluted by 2 bed volumes of 1 M NaCl. High-resolution size exclusion chromatography was performed on a Superdex 30-HR column (60 × 1.6 cm, Pharmacia, Sweden). Two fractions were collected according to elution time between 41 and 65 min and between 66 and 93 min for PS and OS respectively. The isolated fractions were freeze-dried, re-dissolved in water and freeze-dried four times to completely remove the ammonium formate salt. These fractions corresponded to the PS and OS fractions of Pinot meunier and Chardonnay base wines.

2.4. Analysis of PS

Neutral monosaccharides were released after hydrolysis of the wine PS by treatment with 2 M trifluoroacetic acid (75 min at 120 °C) (Albersheim, Nevins, English, & Karr, 1967). They were then converted to the corresponding alditol acetate derivatives by reduction and acetylation, and quantified by gas chromatography (GC) analysis using a fused silica DB-225 (210 °C) capillary column (30 m × 0.32 mm i.d., 0.25 µm film), with hydrogen as the carrier gas, on a Shimadzu GC-2010plus gas chromatograph. The different alditol acetates were identified from their retention times by comparison with standard monosaccharides. Neutral sugar amounts were calculated relative to the internal standard. Allose and myo-inositol were used as internal standards.

2.5. PS concentration

The calculation of base wine PS concentrations took into account the composition of characteristic monosaccharides as well as the hydrolysis yield as previously described for wine PS compositions (Doco, Quellec, Moutounet, & Pellerin, 1999; Vidal et al., 2001). The concentrations of MPs, PRAGs, and RG-II were estimated from the concentration of individual glycosyl residues, as determined by GC after hydrolysis, reduction, and acetylation (Doco et al., 1999). All mannoses were attributed to yeast MPs. The PRAGs were estimated from the sum of galactose and arabinose residues. RG-II was calculated from the concentrations of 2-O-methyl-fucose and 2-O-methyl-xylose.

2.6. Sugar composition of OS fractions as trimethylsilyl (TMS) derivatives

The neutral and acidic glycosyl residues of isolated OS fractions were undergone to solvolysis with anhydrous MeOH containing 0.5 M HCl for 16 h at 80 °C, followed by per-O-trimethylsilylation of the methyl glycoside derivatives (Guadalupe et al., 2014; Quijada Morín et al., 2014). The TMS derivatives were separated on two DB-1 capillary columns (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 µm film) (temperature programming 120–200 °C at 1.5 °C/min), coupled to a single injector inlet through a two-holed ferrule, with H₂ as the carrier gas on a Shimadzu GCMS-QP2010SE gas chromatograph. The outlet of one column was directly connected to a FID at 250 °C and the second column was connected to a mass detector via a deactivated fused-silica column (0.25 m × 0.11 µm i.d.). Samples were injected in the pulsed split mode with a split ratio of 20:1. The transfer line to the mass was set at 280 °C. ESI mass spectra were obtained from *m/z* 50 to 400 every 0.2 s in the total ion-monitoring mode using an ion source temperature of 200 °C.

a filament emission current of 60 μ A, and an ionization voltage of 70 eV. Myo-inositol was used as internal standard.

2.7. Amino acid analysis of fractions isolated by size exclusion chromatography

Amino acid composition was determined after acid hydrolysis adding 6 M HCl to samples and heating samples at 110 °C for 24 h. The excess of acid was eliminated and hydrolysed samples were analyzed by ionic exchange chromatography (Handbook of BIOCHROM 30, Cambridge, UK) using 0.2 M lithium citrate at pH = 2.2 as eluent. Norleucine was used as internal standard. Analysis was done in triplicate.

3. Results and discussion

3.1. Enological parameters for grape juices and base wines

The internal structure of the mature grape berry is heterogeneous with three zones: 1) the central zone, pulp around the seeds and the fibrovascular bundles leading to the pedicle with average rigidity of cell walls, 2) the intermediate zone, and 3) the peripheral zone nearest to the skin whose cell walls are weak and very rigid respectively. This heterogeneous distribution has technological repercussions in the pressing as well as the grape juice and wine qualities. Thus, the juice released during the pressing cycle of whole bunches without destemming originates from 1) the intermediate zone, 2) the central zone and finally 3) the peripheral zone of the mature grape berry pulp (Coombe, 1987; Hardy, 1990).

The enological parameters determined for Pinot meunier and Chardonnay grape juices and base wines produced from grape juices collected during the press fractioning are presented Table 1.

The PM auto-pressed juice APe results from the grape berries being naturally pressed or squeezed during the loading of the press. Except for sugar content, the values observed for PM grape juice APe and wine APe were generally lower than all the other fractions (S1 to S5), as previously observed (Marchal et al., 2012). These differences for enological parameters could be explained by the presence of water between the grape berries of the bunches, and thus a dilution effect of auto-pressed grape juice, but this parameter is really difficult to estimate.

Concerning S1 to S5, the total acidity and pH of the PM and CH grape juices decreased and increased throughout the pressing cycle respectively. The total acidity decreased by 32% and 35% between the grape juice S1 and the grape juice S5 (PM from 10.3 to 6.7 g/L H₂SO₄; CH from 7.1 to 4.8 g/L H₂SO₄) for PM and CH respectively. There were increased of 0.36 unit (PM 13) and 0.27 unit (CH 14) of pH between S1 and S5 (PM from 2.98 to 3.34; CH from 3.06 to 3.33). The results obtained were in agreement with previous observations made on Koshu, Listan blanco, English and New Zealand grape juice press fractions (Darias Martin, Diaz Gonzales, & Diaz Romero, 2004; Marchal et al., 2012; Patel et al., 2010; Yokotsuka, 1990), suggesting the highest acid content is in the first juices pressed. Throughout the pressing cycle, the sugar content of PM grape juices decreased from 143.5 g/L to 139.1 g/L (–3.1%) between S1 and S5 (Table 1). Similar changes have been shown for different press grape juice fractions (Darias Martin et al., 2004; Yokotsuka, 1990). The intermediate zone of the grape berry containing the less rigid cell walls released the highest concentration of sugars (Conde et al., 2007; Possner & Kliever, 1985). The grape juice sugar content showed a correlation with grape juice pH ($R^2 = 0.93$). In contrast, the sugar content of CH grape juices increased from 195.7 g/L to 204.2 g/L (+4.2%) between S1 and S5 (Table 1), and it showed a low correlation with grape juice pH ($R^2 = 0.68$). However, these sugar differences were very low when compared to total acidity changes (32–35%).

In mature grapes, the main acids found in the berries are tartaric and malic acids. The malic and tartaric acid concentrations decreased by around 20% (PM from 11.0 g/L to 9.1 g/L; CH from 6.2 g/L to 4.9 g/L) and 30% (PM from 8.5 g/L to 5.9 g/L; CH from 12.2 g/L to 8.4 g/L) respectively from the grape juice S1 to the grape juice S5 (Table 1). These results are in agreement with the localization of the acids in the berry. The intermediate zone contained the highest concentration of tartaric acid (Conde et al., 2007; Possner & Kliever, 1985), and the central zone presented the highest concentration of malic acid which decreases towards the skin (Conde et al., 2007).

Potassium and calcium levels, increased by approximately 10–12% (PM from 1574 mg/L to 1784 mg/L; CH from 1440 mg/L to 1596 mg/L) and 30% (PM from 75 mg/L to 108 mg/L) respectively throughout the pressing cycle (Table 1). In fact, the peripheral zone of mature grape berry had the highest concentration of potassium and calcium extracted at the last steps of press fractioning (Davies,

Table 1

Enological parameters of Pinot meunier and Chardonnay grape juices and base wines elaborated from grape juices collected during the press fractioning. APe, end of autopressing or free run juice; S, squeeze juices; % v/w: ratio of total extracted juice volume per 8000 kg or 6 kg marc of Pinot meunier and Chardonnay grapes before settling (v: volume; w: weight); PM 13: Pinot meunier grape bunches of 2013 vintage; CH 14: Chardonnay grape bunches of 2014 vintage.

	Total extracted juice volume (% v/w)		Total acidity (g/L H ₂ SO ₄)		pH		Sugar content (g/L)		Malic acid (g/L)		Tartaric acid (g/L)		Potassium (mg/L)		Calcium (mg/L)		Alcohol content (% vol)		Gluconic acid (mg/L)		
	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	PM 13	CH 14	
Grape juice																					
APe	6.9	–	8.9	–	3.03	–	147.6	–	9.9	–	5.9	–	1016	–	148	–	–	–	–	152	–
S1	23.1	20.2	10.3	7.1	2.98	3.06	143.5	195.7	11	6.2	8.5	12.2	1574	1440	75	125	–	–	–	79	5
S2	41.9	34	9.1	6.6	2.99	3.12	145	194.7	9.7	6	7.6	10.7	1560	1425	82	115	–	–	–	61	2
S3	53.1	47.7	8.1	6.4	3.11	3.16	142.7	202.1	9.2	6.2	7.4	10.2	1668	1464	82	110	–	–	–	63	1
S4	63.8	57.5	7.4	5.8	3.22	3.20	140.4	203.2	8.9	5.9	5.9	10.1	1620	1287	91	108	–	–	–	65	7
S5	68.1	67	6.7	4.8	3.34	3.33	139.1	204.2	9.1	4.9	4	8.4	1784	1596	108	112	–	–	–	72	4
Wine																					
APe	–	–	8.5	–	2.88	–	–	–	9.3	–	4.4	–	587	–	141	–	–	8.4	–	–	–
S1	–	–	10	7.7	2.87	3.08	–	–	10.1	4.7	5.9	6.5	702	981	91	113	8.16	11.62	–	–	
S2	–	–	8.7	7.4	2.93	3.12	–	–	9.2	4.9	5.2	5.8	745	959	88	110	8.27	11.62	–	–	
S3	–	–	7.6	7.1	2.98	3.15	–	–	8.3	5	4.2	5.2	770	975	94	95	8.31	12.02	–	–	
S4	–	–	7	6.8	3.12	3.21	–	–	8.2	4.3	3.9	5	994	1099	105	91	8.09	12.11	–	–	
S5	–	–	6.5	6	3.29	3.30	–	–	8.7	3.6	3.3	4.5	1111	1051	119	93	7.89	12.24	–	–	

Shin, Liu, Thomas, & Schachtman, 2006; Possner & Kliewer, 1985). The CH calcium content appeared stable throughout the pressing cycle. For PM, there was a correlation between the calcium content and the tartaric acid concentration ($R^2 = 0.988$) during the pressing cycle.

The gluconic acid is an index marker for the presence of *Botrytis cinerea*. In Table 1, the values of the PM and CH grape juices from S1 to S5 show the low level of grape berry contamination by *Botrytis cinerea*. Indeed, the concentration of gluconic acid in the grape juices studied is adequate since it is equal to, or lower than 100 mg/L. In contrast, the gluconic acid level of PM auto-pressed juice was 152 mg/L which corresponded to a large presence of *Botrytis cinerea* on the berry skin drained from the first juice extracted. After rinsing of the grape skins, a strong decrease of the gluconic acid content was observed for grape juice S1 (PM: 79 mg/L; CH: 5 mg/L). The difference of gluconic acid content was explained by the choice of grape bunches. Indeed, visual selection of healthy grape bunches was made at laboratory scale for CH while at the industrial scale, the loading of the press depends on the delivery of the harvested PM grape batches without precise control of the contamination by *Botrytis cinerea*, and the possible presence of a few botrytized bunches.

The enological parameters determined for PM and CH base wines made from the different grape juices collected during the press fractioning followed the same changes as the grape juices. For PM, correlations were found between the calcium and potassium content ($R^2 = 0.942$), between the pH and calcium content ($R^2 = 0.953$), and the pH and potassium content ($R^2 = 0.972$) throughout the pressing cycle. The potassium concentrations of PM and CH base wines were 1.5 to 2.3 times lower than their corresponding grape juices. Both potassium and calcium combined with tartaric acid form potassium bitartrate and calcium tartrate crystals that precipitate during fermentation and cold stabilization. The tartrate salt formation removed by filtration was responsible for the decrease of potassium content.

All the results clearly showed the strong effects of the pressing cycle on enological parameters of the grape juice different fractions and their corresponding base wines. Furthermore, changes for the different parameters are similar whatever the press, the grape variety and the vintage.

3.2. Effect of the grape juice press fractioning on PS content of base wines

Table 2 presents the glycosyl residue composition of the PM and CH base wine PS. The presence of neutral sugars (rhamnose, arabinose, galactose and fucose), coming from the pectocellulosic cell

walls of grape berry and mannose from yeast PS, was observed. These results confirmed the presence of arabinogalactan-, homogalacturonan-, RG-like structures and mannan- in the PS of the Pinot meunier and Chardonnay base wines studied (Ayestarán et al., 2004; Gao, Fangel, Willats, Vivier, & Moore, 2015; Martínez Lapuente et al., 2015). The presence of xylose residues indicated that traces of hemicelluloses might be solubilised from grape berry cell walls (Vidal et al., 2003). The identification of several rare sugars like apiose, 2-O-methyl-fucose, and 2-O-methyl-xylose showed the presence of RG-II (Vidal et al., 2003) in the PS of the PM and CH base wines. Glucose is not known as a component of pectic polysaccharides, but may arise from microbial or bacterial PS or anthocyanins (Cie Zack et al., 2010). Our results show a wide variation of concentration for the three major glycosyl residues of the total base wine PS, namely arabinose, galactose and mannose as shown by Apolinar Valiente, Romero Cascales et al. (2014). These concentrations were in agreement with the glycosyl residue composition obtained in a previous study from white base wines (Martínez Lapuente et al., 2013). For PM and CH base wine, significantly concentration decreases were reported for arabinose, rhamnose, galactose and mannose residues (74 or 64%, 67 or 48%, around 40% and around 25% respectively) as the pressing cycle progressed.

The arabinose/galactose ratio which is characteristic of PRAGs (Apolinar Valiente, Romero Cascales et al., 2014) is also shown in the Table 2. This ratio has been reported to be affected by the degradation of wine type II AGPs or arabinans during the aging of wines on lees (Doco et al., 2003) or by the release of PS rich in arabinose-like arabinans. The ratio decreased by 58% or 14% (PM from 0.72 to 0.30; CH from 0.77 to 0.66, respectively) during the pressing cycle suggesting a greater release of PS rich in arabinose in grape juice at the start of the pressing cycle. This could be linked to the different zones of the mature grape berry pulp released during the pressing cycle. The chemical composition changes from the intermediate zone to the peripheral zone (Hardy, 1990), where the highest AGPs content have been found (Vidal et al., 2001).

The changes in total PS were monitored for the six PM and five CH Champagne base wines (Fig. 1A, B). Total PS contents were calculated as the sum of individual PS families: MPs, PRAGs and RG-II (Apolinar Valiente, Romero Cascales et al., 2014; Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Doco et al., 1999; Ducasse et al., 2010; Martínez Lapuente et al., 2015; Quijada Morín et al., 2014; Vidal et al., 2001). The results showed significant changes in base wine PS concentration as the pressing cycle progressed. For the PM base wine APe, the total PS concentration was 282 mg/L. Concentrations of 244 mg/L and 201 mg/L were determined in the base wine corresponding to the PM base wine S1 and the CH base wine S1

Table 2

Glycosyl residue composition (mg/L) of polysaccharides from Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines elaborated from grape juices collected during the press fractioning. APe, end of autopressing or free-run juice; S, squeeze juices; PM 13: Pinot meunier base wines of 2013 vintage; CH 14: Chardonnay base wines of 2014 vintage.

	2-O-MeFuc	Rha	Fuc	2-O-MeXyl	Ara	Api	Xyl	Man	Gal	Glc	Ara/Gal
PM 13											
APe	0.61	7.6	0.73	0.33	41.7	0.52	1.18	84.7	70.8	16.3	0.72
S1	0.28	5.5	0.56	0.21	36.3	0.87	0.33	77.7	63.9	7.5	0.70
S2	0.28	3.4	0.42	0.16	28.5	0.56	0.49	73.2	52.8	7.9	0.66
S3	0.21	2.7	0.42	0.26	24.3	0.42	0.24	76.6	54.6	7.9	0.55
S4	0.21	2.4	0.33	0.16	16.5	0.28	0.35	72.2	51.9	3.5	0.39
S5	0.28	2.5	0.31	0.21	10.8	0.33	0.24	64.8	43.6	2.9	0.30
CH 14*											
S1	0.26 ± 0.0	4.2 ± 0.2	0.36 ± 0.0	0.17 ± 0.0	25.9 ± 1.6	0.25 ± 0.0	0.10 ± 0.0	79.7 ± 3.8	41.3 ± 2.1	3.1 ± 0.1	0.77 ± 0.0
S2	0.34 ± 0.1	4.5 ± 0.6	0.46 ± 0.0	0.23 ± 0.0	27.8 ± 1.8	0.33 ± 0.1	0.38 ± 0.1	68.8 ± 5.9	44.1 ± 2.9	3.7 ± 0.6	0.77 ± 0.0
S3	0.30 ± 0.1	3.4 ± 0.4	0.34 ± 0.1	0.17 ± 0.0	23.7 ± 1.4	0.31 ± 0.1	0.27 ± 0.1	72.6 ± 6.7	37.9 ± 2.4	4.1 ± 0.7	0.77 ± 0.0
S4	0.26 ± 0.0	2.5 ± 0.1	0.31 ± 0.0	0.14 ± 0.0	19.2 ± 0.4	0.44 ± 0.2	0.20 ± 0.1	74.4 ± 4.4	35.4 ± 1.7	4.9 ± 0.9	0.66 ± 0.0
S5	0.14 ± 0.0	1.6 ± 0.1	0.22 ± 0.0	0.13 ± 0.0	14.3 ± 0.3	0.29 ± 0.0	0.20 ± 0.0	58.7 ± 1.8	26.5 ± 0.8	4.9 ± 0.0	0.67 ± 0.0

2-O-MeFuc, 2-O-CH₃-fucose; Rha, rhamnose; Fuc, fucose; 2-O-MeXyl, 2-O-CH₃-xylose; Ara, arabinose; Api, apiose; Xyl, xylose; Man, mannose; Gal, galactose; Glc, glucose.
*Average of three measurements and standard deviation.

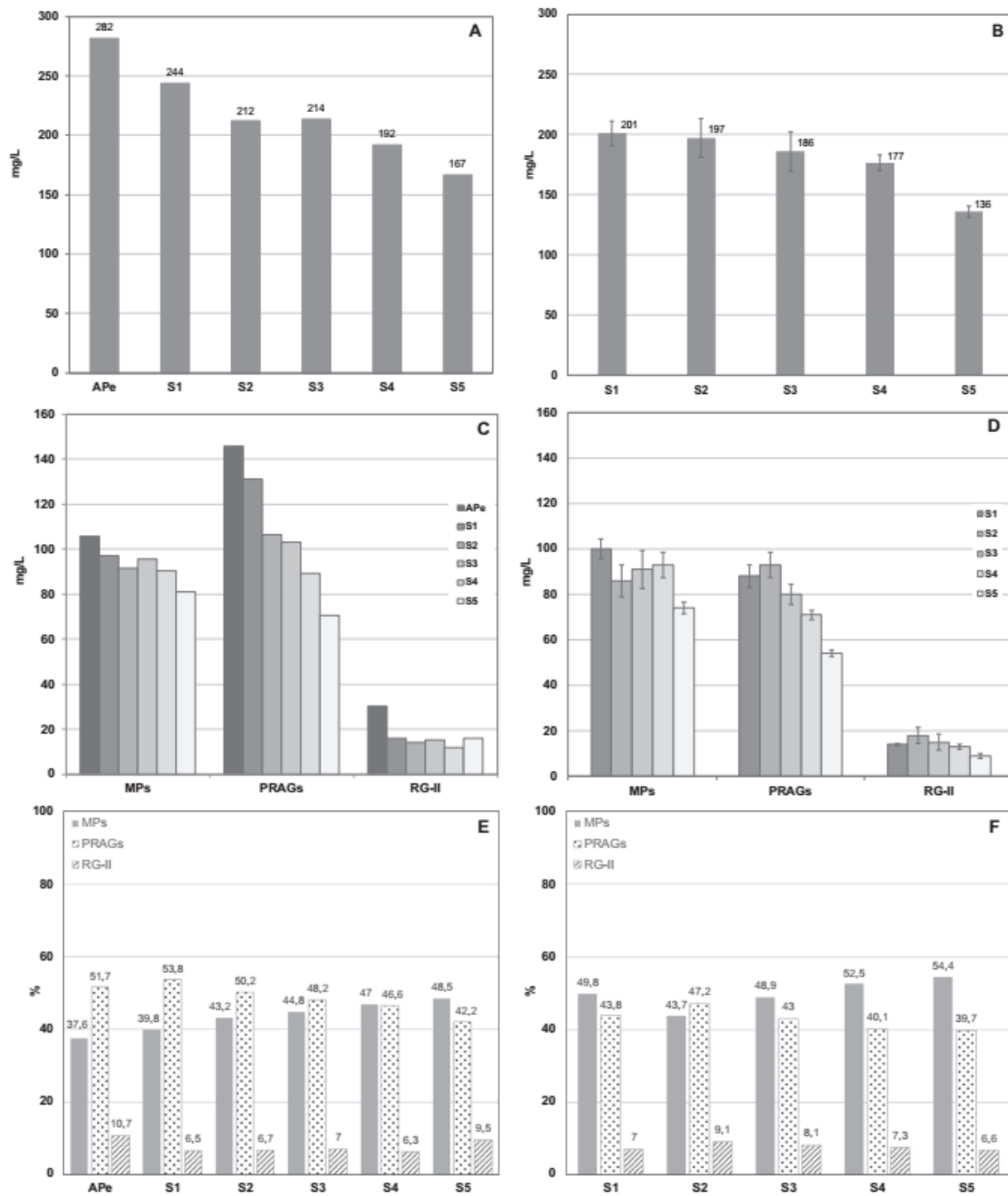


Fig. 1. Changes in polysaccharides of Pinot meunier 2013 and Chardonnay 2014 Champagne base wines elaborated from grape juices collected during the press fractioning. (A), (B) Total concentration of Pinot meunier and Chardonnay polysaccharides respectively. (C), (D) Concentration of Pinot meunier and Chardonnay mannoproteins (MPs), polysaccharides rich in arabinose and galactose (PRAGs) and rhamnogalacturonan II (RG-II) respectively, and (E), (F) Percentage of Pinot meunier and Chardonnay MPs, PRAGs, RG-II respectively. APe, end of autopressing or free-run juice; S, squeeze juices.

respectively. These concentrations decreased by around 32% (PM: 167 mg/L, - 31.5%; CH: 136 mg/L, - 32.3%) for the base wine S5 produced with the juice isolated at the last step of pressing cycle. These concentrations were in agreement with the total PS content

obtained in a previous study for several Spanish white base wines (Esteruelas et al., 2015; Martínez Lapuente et al., 2013).

The concentrations of MPs, PRAGs and RG-II in PM and CH Champagne base wines are shown in Fig. 1C and D. The wine

MPs were released from the yeast during fermentation. A higher concentration of MPs was observed in the PM base wine corresponding to the APe juice (106 mg/L). In the base wines obtained from the different steps of the pressing cycle, this concentration decreases by around 24% (81 mg/L) in the base wine S5. The same change was found for the CH base wines, the MPs concentration decreasing by 26% as the pressing cycle progressed, from 100 mg/L in the base wine S1 to 74 mg/L in the base wine S5. Taking into account that the yeast strain and winemaking process were similar for the Champagne base wines studied, the decrease during the PM or CH pressing cycle of wine MPs might be attributed to initial composition of the must (Guilloux-Benatier, Guerreau, & Feuillat, 1995; Rosi & Giovani, 2003), which will directly influence the growth and fermentation kinetics of the yeast and thus the final concentration of MPs in the wine.

The concentration of PRAGs significantly decreased, by 52% and 42%, in the PM and CH base wines respectively from the beginning of the pressing cycle to the last step of pressing cycle (PM from 146 mg/L to 70 mg/L; CH from 93 mg/L to 54 mg/L). The measured concentrations were within the range found for PRAGs in white base wines produced from Spanish varieties: Albarin, Viura, Verdejo (Martínez Lapuente et al., 2013). At the first steps of the pressing cycle, the higher concentration of PRAGs in wine reflected a greater release of this polysaccharide family rich in arabinose and galactose. The differences observed are likely associated with differences in grape tissue distribution and ripeness between the grape berry pulp and the skin. The AGPs, which were one of the polysaccharide from the PRAGs family, and which were localized in soluble form within grape cell walls (Vidal et al., 2001) were easily extracted. As shown by Vidal, Doco, Moutounet, and Pellerin (2000), AGPs were released as soon as the grape berry was pressed, and around 80% of the AGPs present in must at the pressing beginning originated from pulp tissues (Vidal et al., 2001).

Furthermore, the pH increased and the total acidity decreased from the grape juice S1 to S5 (Table 1). The pressure applied on the grape berries in the press might modulate the rate of extraction and the solubilization of components such as PS during the pressing cycle. Furthermore, enzymatic degradation or precipitation phenomenon of some PRAGs during vinification, as suggested by previous results (Guadalupe & Ayestarán, 2007), could affect their concentration in Champagne base wines. Lastly, the *Botrytis cinerea* infection detected by the high gluconic acid levels in free-run juice (Table 2) may have modified the cell walls of the berry tissues by fungal enzymes (i.e. *Botrytis cinerea* pectinases), in addition to the action of grape endogenous enzymes, and impacted the greater release of PRAGs in APe juice. All these observations could explain the higher concentration of PRAGs in wines produced from juices released at the beginning of the pressing cycle.

Additionally, the concentration for RG-II was 30 mg/L in the PM base wine produced from the APe juice. This concentration decreased by 47% (16 mg/L) in the S1 wine and remained stable in the different base wines throughout the pressing cycle. The presence of *Botrytis cinerea* enzymes in grape berries could allow for a better release of RG-II in free-run juice (Francioli et al., 1999). For the CH base wines, the RG-II concentration decreased by 50% throughout the pressing cycle, from 18 mg/L for the S2 base wine to 9 mg/L in the S5 base wine. Although RG-II was present in low concentrations, this PS was detected in all PM and CH Champagne base wines. These results contrasted with the absence of RG-II molecule in Spanish monovarietal white base wines (Martínez Lapuente et al., 2013). These authors attributed this absence to the winemaking process but it could be explained by varietal characteristics or by different maturity stages of grape berries.

The rate of each PS family in base wines is shown in Fig. 1E and F. According to our data, MPs represented 37.6% of total PS in the PM APe base wine, 39.8% in PM S1 base wine, and 49.8% in

CH S1 base wine. This rate increased by around 11% (48.5%) and by around 8.5% (54.4%) in the PM and CH base wine S5 respectively. In contrast, PRAGs decreased from 51.7% to 42.2% for PM and from 47.2% to 39.7% for CH of total PS throughout the pressing cycle. The rate of RG-II remained stable with values between 6.3% and 9.5% in PM and CH base wines, excepted to APe. PRAGs represented around 40–50% of total PS that corresponded to values lower than those observed for Albarin, Viura, Verdejo white base wines (75 ± 26%) (Martínez Lapuente et al., 2013). It is interesting to observe that the total rate of grape berry PS in PM base wines decreased from 62.4% for APe wine to 51.7% for S5 wine, and from 56.3% for S2 wine to 46.3% for S5 wine in CH base wines. This rate remained higher than the rate of yeast PS, except for PM S5 base wine S5 and CH S4 and S5 base wines which showed more or less the same rates of grape and yeast PS. These rate changes might be attributed to initial composition of the must and to the presence of endogenous pectolytic enzymes in grape juices.

3.3. Effect of the grape juice press fractioning on OS content of base wines

The second fraction eluted on Superdex 30-HR column contained a complex mixture of small sugars, representing the OS fraction of the studied base wines as described previously in Cabernet Sauvignon, Carignan, Merlot and Monastrell wines (Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Doco et al., 2015; Ducasse et al., 2010).

Table 3 shows the glycosyl residue composition of OS analyzed from the PM and CH Champagne base wines. They contained the sugars known to form part of wine complex carbohydrates (Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Ayestarán et al., 2004; Doco et al., 2003; Quijada Morín et al., 2014; Vidal et al., 2003; Waters et al., 1994).

All the base wine OS included rhamnose, arabinose, galactose, xylose, galacturonic and glucuronic acids coming from the pectocellulosic cell walls of grape berries. Sugars such as mannose and glucose were released from the yeast PS. The identification of these sugars confirms the presence in all PM and CH Champagne wine fractions of oligosaccharidic families previously identified (Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Bordiga et al., 2012; Doco et al., 2015; Ducasse et al., 2010; Quijada Morín et al., 2014). As observed in previous studies, the presence of xylose, glucuronic acid and 4-O-Me glucuronic acid residues indicates that fragments of hemicelluloses might have been solubilized from grape berry cell walls and recovered as OS structures in wines (Ducasse et al., 2010; Vidal et al., 2003).

Glucose, mannose, xylose and xylitol were the most abundant compounds in all the PM base wines. Their contents reached values from 15.9 to 18.0%mol (Man), from 11.0 to 15.2%mol (Xyl), and from 10.3 to 12.9%mol (Xylitol) from base wine S1 to S5. The glucose content decreased from 36.9 to 27.4%mol. In the CH base wines, glucose, mannose, galacturonic acid and xylose were the most abundant glycosyl molecules. Their contents reached values from 29.8 to 39.5%mol (Glc), from 16.0 to 19.0%mol (Man), and from 9.8 to 13.4%mol (Xyl). The galacturonic acid content of CH base wines decreased by around 40% throughout the pressing cycle, from 17.7%mol for base wine S2 to 10.4%mol for base wine S5. It is noteworthy that glucose and mannose were mainly released from yeast cell walls while xylose and xylitol residues in the OS fractions originated from grape cell wall. On the other hand, glucuronic acid and fucose (a specific plant glycosyl residue) were the less abundant glycosyl residues of the OS fractions isolated from the PM and CH base wines, which is in agreement with previous studies carried out on different red wines and a Chardonnay wine (Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Bordiga et al., 2012; Quijada Morín et al., 2014). In the CH base wines, the content of OS

Table 3

Glycosyl composition (%mol) and characteristic ratios of oligosaccharides from Pinot meunier and Chardonnay Champagne base wines elaborated from grape juices collected during the press fractioning. AP, autopressing or free-run juice; S, squeeze juices; PM 13: Pinot meunier base wines of 2013 vintage; CH 14: Chardonnay base wines of 2014 vintage.

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	Gal A	Glc A	Xylitol	4-O-MeGlc A	Ara/Gal	Rha/Gal A	(Ara + Gal)/Rha
PM 13														
APe	3.5	1.2	11.7	10.5	15.9	4.9	34.3	5.2	1.5	7.7	3.6	2.39	0.67	4.74
S1	2.0	1.3	9.6	11.0	15.9	4.2	36.9	3.8	1.2	10.3	3.7	2.29	0.53	6.90
S2	2.1	1.4	9.0	12.6	16.4	3.1	35.3	3.6	1.0	12.2	3.4	2.90	0.58	5.76
S3	2.3	1.5	10.4	14.5	15.7	3.0	31.9	3.7	1.4	11.8	3.7	3.47	0.62	5.83
S4	2.1	1.4	7.1	14.9	18.5	4.3	28.9	3.8	1.8	12.8	4.3	1.65	0.55	5.43
S5	2.8	1.5	6.9	15.2	18.0	5.6	27.4	3.9	1.9	12.9	3.9	1.23	0.72	4.46
CH 14^a														
S1	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.3	7.4 ± 0.3	9.8 ± 0.4	16.8 ± 0.1	3.6 ± 0.3	42.5 ± 1.3	10.1 ± 0.9	1.1 ± 0.1	2.4 ± 0.1	3.7 ± 0.1	2.27 ± 0.3	0.12 ± 0.0	9.38 ± 0.4
S2	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.1	8.6 ± 0.8	13.7 ± 1.8	16.0 ± 0.8	3.3 ± 0.5	29.8 ± 0.9	17.7 ± 3.8	1.1 ± 0.1	3.1 ± 0.7	4.3 ± 0.6	2.69 ± 0.6	0.08 ± 0.0	8.97 ± 0.6
S3	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	5.1 ± 0.3	12.9 ± 2.1	16.4 ± 1.7	4.3 ± 0.6	35.7 ± 0.8	15.6 ± 2.8	0.9 ± 0.3	3.8 ± 0.3	2.7 ± 1.5	1.19 ± 0.2	0.06 ± 0.0	11.33 ± 0.8
S4	1.1 ± 0.5	0.8 ± 0.4	5.0 ± 2.5	13.4 ± 3.1	19.0 ± 1.1	3.9 ± 0.8	34.7 ± 6.5	12.6 ± 2.5	1.1 ± 0.2	3.9 ± 0.5	4.5 ± 0.7	1.41 ± 0.9	0.09 ± 0.0	8.72 ± 2.1
S5	1.6 ± 0.2	0.9 ± 0.1	6.6 ± 0.8	13.4 ± 1.3	16.4 ± 0.8	2.8 ± 0.7	39.5 ± 1.5	10.4 ± 2.6	1.1 ± 0.2	3.2 ± 0.4	4.0 ± 0.4	2.40 ± 0.4	0.16 ± 0.0	5.72 ± 0.3

Rha, Rhamnose; Fuc, Fucose; Ara, Arabinose; Xyl, Xylose; Man, Mannose; Gal, Galactose; Glc, Glucose; Gal A, Galacturonic acid; Glc A, Glucuronic acid; 4-O-MeGlc A, 4-O-methyl Glucuronic acid. ^aAverage of three measurements and standard deviation.

originating from yeast cell walls (Man + Glc) appeared higher than OS levels originating from grape cell wall (from 52.1 to 59.3%), excepted for base wine S2 (45.8%). On the contrary, in the PM base wines, the content of OS originating from yeast cell walls were only higher than OS levels originating from grape cell wall for base wines S1 and S2 (52.8% and 51.7% respectively).

In PM and CH base wines, concentration increases were observed for xylose and xylitol residues (around 30 and 40% respectively) throughout the pressing cycle. Interestingly, xylitol and 4-O-methylglucuronic acid were detected in high concentrations in the OS fractions, and especially xylitol that varied between 7.7 and 12.9%mol according to the PM base wine. These glycosyl residues had been previously reported in low amounts in the oligosaccharide fraction of Cabernet Sauvignon, Carignan, Merlot and Syrah red wines (Ducasse et al., 2010; Quijada Morin et al., 2014), but they were not detected in Tempranillo and Grignolino red wines and a Chardonnay white wine (Apolinar Valiente, Williams et al., 2014; Bordiga et al., 2012).

The total OS amount in the isolated fractions of PM Champagne base wines produced from grape juices and collected during the press fractioning was calculated as the sum of individual monosaccharide amounts measured by GC (Fig. 2). Changes in total OS content of base wines, which varied between 97 mg/L and 139 mg/L, were observed as the pressing cycle progressed. Thus we determined a concentration of 127 mg/L for the base wine corresponding to the wine S1. This concentration decreased by 23.8% (97 mg/L) for S4 wine. OS concentrations observed for PM Champagne base wines are in agreement with previous results reported for Chardonnay wines (Bordiga et al., 2012).

Several characteristic ratios have been calculated from OS sugar composition: Arabinose to Galactose (Ara/Gal), Rhamnose to Galacturonic acid (Rha/Gal A), and Arabinose + Galactose to Rhamnose (Ara + Gal)/Rha (Table 3).

The Ara/Gal ratio is characteristic of the PRAGs-like structures (Doco et al., 2003; Vidal et al., 2003) and it can be used to characterize the wine oligosaccharides (Ducasse et al., 2010). The obtained Ara/Gal ratio for OS fractions exhibited significant differences between the six PM and the five CH Champagne base wines with values ranged from 1.23 to 3.47, and from 1.19 to 2.69 respectively. Changes in the Ara/Gal ratio were observed for PM from the wine S1 (2.29) to the wine S3 whose ratio value increased by 35% (3.47), and for CH from the wine S3 (1.19) to the wine S5 whose ratio value increased by 50% (2.40). This behavior could indicate a higher release of oligosaccharides rich in arabinose arising from the pectic framework into this wine made from grape juice pressed

from peripheral zone of mature grape berries. It is noteworthy that in a previous study, the highest value of Ara/Gal ratio was found for Merlot red wine (2.8) (Ducasse et al., 2010)

The Rha/Gal A ratio allows the estimation of the relative richness of wine OS in homogalacturonans (from smooth regions of pectins) versus rhamnogalacturonans (from hairy regions of pectins) like structures (Apolinar Valiente, Romero Cascales et al., 2014). The values detected for the Rha/Gal A ratio were quite similar for all the PM and CH base wines respectively. They varied between 0.53 and 0.72 for PM and between 0.06 and 0.16 for CH. A Rha/Gal A ratio of 0.53 was determined in the PM base wine S1 corresponding to the beginning of the pressing cycle. This ratio increased by around 25% (0.72) in the wine S5. The low values calculated for this ratio in PM and CH base wine oligosaccharides reflected a majority of homogalacturonan-like-structures. Since it is assumed that most of the arabinose and galactose are associated with pectin hairy regions, the relative importance of the neutral side-chains to the rhamnogalacturonan backbone was deduced from the ratio of (Ara + Gal)/Rha. This (Ara + Gal)/Rha ratio showed differences between the six PM and five CH Champagne base wines with values ranged from 4.46 to 6.90 and from 5.72 to 11.33 respectively. Changes in the (Ara + Gal)/Rha ratio were observed from the PM wine S1 (6.90) to the wine S5 for which the ratio value decreased by around 35% (4.46). For the CH, the (Ara + Gal)/Rha ratio decreased by 50% from the wine S3 (11.33) to the wine S5 (5.72). This ratio could indicate that PM and CH base wine S5 (made from S5 grape juice) OS contained more structures from the hairy regions of pectins, rhamnogalacturonan-like structures carrying neutral lateral chains rich in arabinan structures.

These results proved that the OS composition and content of Champagne base wines are affected by press fractioning, and whatever the press type, the grape variety and the vintage.

3.4. Amino acid composition of fractions isolated by size exclusion chromatography

The amino acid composition of aglycone part of PS and OS fractions isolated from Pinot meunier Champagne base wines and elaborated from grape juices collected during the press fractioning are presented in Table 4. The individual amino acid amounts of the base wine PS and OS fractions were expressed in mass percentage of total amino acids.

From the residue amino acid compositions, we showed that the major amino acids of the base wine PS fractions were Ser (from 15.7 to 18.7% of total amino acids), Thr (from 11.7 to 13.2%), Ala

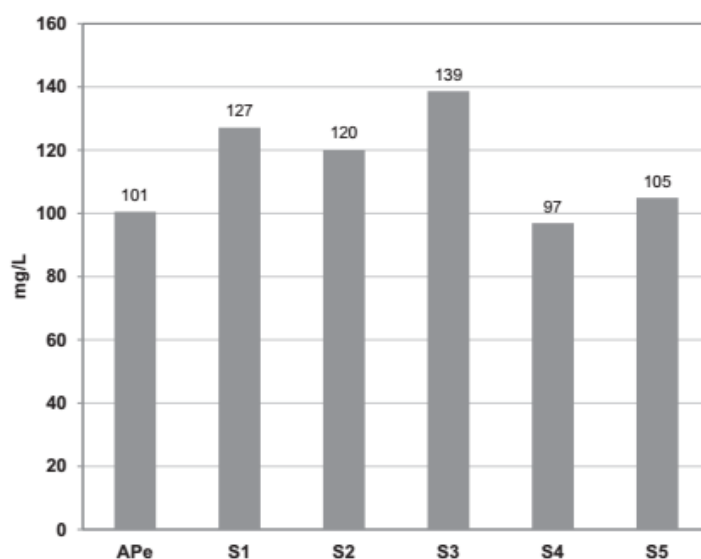


Fig. 2. Total oligosaccharides concentration of Pinot meunier Champagne base wines elaborated from grape juices collected during the press fractioning. APe, end of autopressing or free-run juice; S, squeeze juices.

Table 4

Amino acid composition (%) of fractions isolated by size exclusion chromatography from Pinot meunier Champagne base wines, elaborated from grape juices collected during the press fractioning. APe, end of autopressing or free-run juice; S, squeeze juices.

Amino acid	PS fractions						OS fractions					
	APe	S1	S2	S3	S4	S5	APe	S1	S2	S3	S4	S5
Ala	10.0	10.4	9.8	11.0	10.8	10.4	7.4	7.1	7.7	8.3	8.5	7.8
Gly	5.1	5.9	7.1	7.1	7.9	8.1	7.3	6.2	7.0	7.7	8.2	8.5
Val	5.7	5.7	5.9	5.7	5.9	5.4	7.6	7.8	8.1	8.4	7.7	7.7
Leu	4.3	3.5	4.2	3.7	4.6	4.4	4.6	4.6	4.8	4.3	4.5	3.9
Ile	3.0	2.4	3.1	2.6	3.0	3.0	5.3	5.2	5.3	5.6	5.5	5.3
Ser	15.7	17.9	15.8	18.7	17.1	16.8	7.2	7.5	7.0	7.7	7.9	7.3
Thr	12.6	13.1	11.7	13.2	12.5	12.5	8.8	8.7	8.4	8.9	8.9	9.2
Asx	9.8	7.5	9.4	7.8	10.4	9.1	14.3	14.1	13.7	13.4	14.0	14.4
Glx	8.8	9.2	8.5	8.5	9.0	8.2	15.3	15.9	15.9	16.0	16.8	17.1
Pro	4.6	4.8	4.5	4.4	4.4	4.5	7.4	7.8	7.9	6.8	7.2	7.0
Hyp	6.9	9.2	5.9	6.8	5.0	6.3	1.8	2.9	2.9	1.8	1.4	1.6
Arg	1.9	1.5	2.4	1.9	2.0	1.6	1.4	1.1	1.2	1.2	1.1	1.1
Lys	4.1	4.5	4.1	3.5	0.04	2.9	4.1	5.3	4.8	4.5	3.3	3.0
His	0.9	0.8	1.1	0.8	1.1	0.9	1.0	1.4	1.3	1.1	1.1	0.8
Phe	3.2	1.7	3.1	2.1	3.2	2.9	1.7	0.9	0.9	1.0	1.2	1.3
Tyr	1.3	0.7	1.0	0.8	0.4	2.1	0.6	0.3	1.0	0.2	0.7	0.1
Cys A ^a + Cystine	2.0	1.1	2.6	1.6	2.7	0.8	4.1	3.1	1.8	3.0	1.7	3.7
Met + Met sulf ^b	0.05	nd	nd	nd	nd	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.3

^a Cys A, cysteic acid.

^b Met sulf, methionine sulfone. nd, not detected.

(from 9.8 to 11%), Asx estimated by the sum of aspartic acid and asparagine (from 7.5 to 10.4%), Glx estimated by the sum of glutamic acid and glutamine (from 8.2 to 9.2%), and hydroxyproline, Hyp (from 5 to 9.2%). These amino acids were previously identified as major amino acids in the base wine Con A⁺ fraction rich in MPs (Marchal, Bouquelet, & Maujean, 1996). They were typically identified as major amino acid residues in the protein moieties of AGPs of higher plants. These amino acid were also observed in Champagne wine AGP (Doco & Williams, 2013). In fact, the polypeptide of AGPs usually formed 1 to 10% of the macromolecule, and AGPs were rich in hydroxyproline (i.e. 22% of total amino acids of a Champagne AGP), the most characteristic amino acid of the AGP proteic part. In our study, the Ala, Ser, Thr, Glx and Hyp represented from 55.3% to 59.8% of the total amino acid content of PS

fractions in the six base wines, while these amino acids represented around 69% of the protein part of Champagne AGP (Doco & Williams, 2013). Furthermore, serine, threonine and asparagine were also major amino acids in the protein part of MPs (Waters et al., 1994) and commonly involved in the formation of O- or N-glycosidic linkages. Changes in some residue amino acid contents were observed during the pressing cycle. Then the Gly and Asx contents increased by 2.2% and 1.6% respectively from the PM wine S1 to the wine S5, while the Hyp and Lys contents decreased by 2.9% and 1.6% respectively.

Table 4 presents the amino acid content of OS fractions analyzed from the six PM Champagne base wines. These results show changes amino acid concentration as the pressing cycle progressed. The individual amino acid compositions showed that the two

major amino acids found in the different base wine OS fractions were Glx (from 15.3 to 17.1% of total amino acids) and Asx (from 13.4 to 14.4%). This amino acid composition is similar to the less hydrophobic subfraction with low molecular weight identified by Coelho et al. (2011) from sparkling wines. An increase of Glx (+1.2%) and Gly (+2.3%) amounts was observed as the pressing cycle progressed. The hydroxyproline amino acid detected in all base wine OS fractions (from 1.4 to 2.9%) could be correlated to the presence of AGPs in the different base wines. As observed in amino acid composition of the PS fractions, the Hyp and Lys contents of base wine OS fractions decreased by 1.3% and 2.3% respectively from the PM wine S1 to the wine S5.

In conclusion, this study is the first report proving that the oligosaccharide (OS) and polysaccharide (PS) composition and content in Champagne base wines are affected by press fractioning technique at industrial and laboratory scales. Indeed, the decrease of total polysaccharides, mannoproteins, polysaccharides rich in arabinose and galactose, and rhamnogalacturonan II was highlighted throughout the press fractioning for two presses, two grape varieties, and two vintages. These changes could be impacted by the initial composition of the grape juice, the maturity stage of grape berry pulp and cell wall and/or the degradation by berry endogenous pectolytic enzymes. The understanding of release of PS and OS into the grape juice, and during alcoholic fermentation, is a first approach to investigate the effect of these complex fractions on the technological and organoleptic properties of still base wines and sparkling wines such as Champagne. Further analysis on grape juices and experiments long lees aged wines are needed to complete the impact of press fractioning on PS and OS fraction composition and concentration on Champagne wine quality. Then studies should be carried out in order to better understand the possible relationship with foaming properties of Champagne sparkling wines. Furthermore, a study dealing with the impact of grape maturity stage on grape juices and wines throughout the press fractioning is required.

Acknowledgements

We express our gratitude to the Association Recherche Oenologie Champagne et Université (Reims, France) for financial support. We gratefully thank the Champagne Bruno Paillard (Reims, France) for providing must samples.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.032>.

References

- Abdallah, Z., Aguié-Béghin, V., Abou-Saleh, K., Douillard, R., & Bliard, C. (2010). Isolation and analysis of macromolecular fractions responsible for the surface properties in native Champagne wines. *Food Research International*, 43(4), 982–987.
- Albersheim, P., Nevins, D. J., English, P. D., & Karr, A. (1967). A method for the analysis of sugars in plant cell wall polysaccharides by gas liquid chromatography. *Carbohydrate Research*, 5(3), 340–345.
- Apolinar Valiente, R., Romero Cascales, I., Williams, P., Gómez Plaza, E., López Roca, J. M., Ros Garcia, J. M., & Doco, T. (2014). Effect of winemaking techniques on polysaccharide composition of Cabernet Sauvignon, Syrah and Monastrell red wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 62–71.
- Apolinar Valiente, R., Williams, P., Mazerolles, G., Romero Cascales, I., Gómez Plaza, E., López Roca, J. M., ... Doco, T. (2014). Effect of enzyme additions on the oligosaccharide composition of Monastrell red wines from four different wine-growing origins in Spain. *Food Chemistry*, 156, 151–159.
- Ayestarán, B., Guadalupe, Z., & León, D. (2004). Quantification of major grape polysaccharides (Tempranillo v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 29–39.
- Blanck, G., & Valade, M. (1989). Le fractionnement des moûts. *Le Vigneron champenois*, 5, 266–277.
- Bordiga, M., Travaglia, F., Meyrand, M., German, J. B., Lebrilla, C. B., Coisson, J. D., ... Barile, D. (2012). Identification and characterization of complex bioactive oligosaccharides in white and red wine by a combination of mass spectrometry and gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 3700–3707.
- Boulet, J. C., Trarieux, C., Souquet, J. M., Ducasse, M. A., Caillé, S., Samson, A., ... Cheynier, V. (2016). Models based on ultraviolet spectroscopy, polyphenols, oligosaccharides and polysaccharides for prediction of wine astringency. *Food Chemistry*, 190, 357–363.
- Briche, E., Beltrando, G., & Quéno, H. (2014). Changement climatique et terroirs viticoles. In Tec & Doc Lavoisier (Eds), *Approche modélisatrice du changement climatique à l'échelle de la Champagne viticole (Modeling climate change approach at the level of Champagne vineyard)* (pp. 147–159). Paris: Lavoisier.
- Chalier, P., Angot, B., Delteil, D., Doco, T., & Gunata, Z. (2007). Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein extract or fractions of mannoproteins isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chemistry*, 100, 22–30.
- Cieozack, G., Hazo, L., Chambat, G., Heyraud, A., Lonvaud-Funel, A., & Dols-Lafargue, M. (2010). Evidence for exopolysaccharide production by *Oenococcus oeni* strains isolated from non-ropy wines. *Journal of Applied Microbiology*, 108(2), 499–509.
- Coelho, E., Reis, A., Domingues, M. R. M., Rocha, S. M., & Coimbra, M. A. (2011). Synergistic effect of high and low molecular weight molecules in the foamability and foam stability of sparkling wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3168–3179.
- Coombe, B. G. (1987). Distribution of solutes within the developing grape berry in relation to its morphology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(2), 120–127.
- Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dias, A., Tavares, R., Sousa, M., ... Geros, H. (2007). Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food*, 1(1), 1–22.
- Davies, C., Shin, R., Liu, W., Thomas, M., & Schachtman, P. (2006). Transporters expressed during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development are associated with an increase in berry size and berry potassium accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 57(12), 3209–3216.
- Darias Martin, J., Diaz Gonzales, D., & Diaz Romero, C. (2004). Influence of two pressing processes on the quality of must in white wine production. *Journal of Food Engineering*, 63, 335–340.
- Doco, T., Quéllec, N., Moutounet, M., & Pellerin, P. (1999). Evolution of soluble polysaccharides during ageing of red wines (Carignan Noir cv.). *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, 25–32.
- Doco, T., Vuchot, P., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2003). Structural modification of arabinogalactan-proteins during aging of red wines on lees. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(3), 150–157.
- Doco, T., & Williams, P. (2013). Purification and structural characterization of a type II Arabinogalactan-Protein from Champagne wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(3), 364–369.
- Doco, T., Williams, P., Meudec, E., Cheynier, V., & Sommerer, N. (2015). Complex carbohydrates of red wine: Characterization of the extreme diversity of neutral oligosaccharides by ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 671–682.
- Ducasse, M. A., Williams, P., Meudec, E., Cheynier, V., & Doco, T. (2010). Isolation of Carignan and Merlot red wine oligosaccharides and their characterization by ESI-MS. *Carbohydrate Polymers*, 79, 747–754.
- Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., & Charpentier, C. (2001). Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 153–159.
- Esteruelas, M., González Royo, E., Kontoudakis, N., Orte, A., Cantos, A., Canal, J. M., & Zamora (2015). Influence of grape maturity on the foaming properties of base wines and sparkling wines (Cava). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2071–2080.
- Francioli, S., Buxaderas, S., & Pellerin, P. (1999). Influence of *Botrytis cinerea* on the polysaccharide composition of Xarel·lo musts and cava base wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 456–460.
- Gao, Y., Fangel, J. U., Willats, W. G. T., Vivier, M. A., & Moore, J. P. (2015). Dissecting the polysaccharide-rich grape cell wall changes during winemaking using combined high-throughput and fractionation methods. *Carbohydrate Polymers*, 133, 567–577.
- Gao, Y., Fangel, J. U., Willats, W. G. T., Vivier, M. A., & Moore, J. P. (2016). Dissecting the polysaccharide-rich grape cell wall matrix using recombinant pectinases during winemaking. *Carbohydrate Polymers*, 152, 510–519.
- Gerbaud, V., Gabas, N., Laguerie, C., Blouin, J., Vidal, S., Moutounet, M., & Pellerin, P. (1996). Effect of wine polysaccharides on the nucleation of potassium hydrogen tartrate in model solutions. *Transactions of the Institution of Chemical Engineers*, 74, 782–790.
- Girbau Sola, T., López Tamames, E., Buján, J., & Buxaderas, S. (2002). Foam aptitude of trepat and monastrell red varieties in cava elaboration. 1. Base wine characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5596–5599.
- Guadalupe, Z., & Ayestarán, B. (2007). Polysaccharide profile and content during the vinification and aging of Tempranillo red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10720–10728.
- Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Williams, P., & Doco, T. (2014). Determination of must and wine polysaccharides by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and size-exclusion chromatography (SEC). In Kishan Gopal Ramawat & Jean-

- Michel Mérillon (Eds.), *Book polysaccharides: Bioactivity and biotechnology* (pp. 1265–1297). Springer International Publishing.
- Guide Curien de la Champagne 2015–2016 (2015).
- Godinot, J. (1718). In *Book Manière de cultiver la vigne et de faire le vin en Champagne, Et ce qu'on peut imiter dans les autres Provinces, pour perfectionner les Vins*; Multeau B., Eds.; Reims; 48 pages.
- Guilloux-Benatier, M., Guerreau, J., & Feuillat, M. (1995). Influence of initial colloid content on yeast macromolecule production and on the metabolism of wine microorganisms. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(4), 486–492.
- Hardy, G. (1990). Le pressurage: élément primordial de la qualité des vins de base en méthode champenoise. *Revue des Œnologues*, 55, 17–25.
- Marchal, R., Bouquelet, S., & Maujean, A. (1996). Purification and partial biochemical characterization of glycoproteins in a Champenois Chardonnay wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1716–1722.
- Marchal, R., Ménissier, R., Oluwa, S., Bécart, B., Jeandet, P., Kemp, B., Foss, C., & Robillard, B. (2012). Press fractioning: Impact on Pinot noir grape juice and wine composition. *Macrowine 2012, Montpellier, 18–21 June 2012*.
- Martínez Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., Ortega Heras, M., & Pérez Magariño, S. (2013). Changes in polysaccharide composition during the sparkling winemaking and aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 12362–12373.
- Martínez Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., & Pérez Magariño, S. (2015). Role of major wine constituents in the foam properties of white and rosé sparkling wines. *Food Chemistry*, 174, 330–338.
- Patel, P., Herbst-Johnstone, M., Lee, S., Gardner, R., Weaver, R., Nicolau, L., & Kilmartin, P. (2010). Influence of juice pressing conditions on polyphenols, antioxidants, and varietal aroma of Sauvignon Blanc microferments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7280–7288.
- Poncet-Légrand, C., Doco, T., Williams, P., & Vernhet, A. (2007). Inhibition of grape seed tannin aggregation by wine mannoproteins: Effect of polysaccharide molecular weight. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 87–91.
- Possner, D., & Kliewer, W. (1985). The localisation of acids, sugars, potassium and calcium in developing grape berries. *Vitis*, 24, 229–240.
- Ribèreau-Gayon, P., Gloriès, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2012). *Traité d'œnologie (Tome 2) - Chimie du Vin, Stabilisation et traitements*. In Dunod (Eds.), *La notion de limpidité et les phénomènes colloïdaux (The concept of clarity and colloidal phenomena)* (pp. 383–402). Paris: Dunod.
- Rosi, I., & Giovani, G. (2003). Effect of some winemaking variables on the production of exopolysaccharides by *Saccharomyces cerevisiae*. In *Book 7th International Symposium of Oenology*, Lonvaud-Funel, A., Eds.; Editions TEC and DOC: Paris; pp 324–328.
- Quijada Morín, N., Williams, P., Rivas Gonzalo, J. C., Doco, T., & Escribano Bailón, M. T. (2014). Polyphenolic, polysaccharide and oligosaccharide composition of Tempranillo red wines and their relationship with the perceived astringency. *Food Chemistry*, 154, 44–51.
- Vidal, S., Doco, T., Moutounet, M., & Pellerin, P. (2000). Soluble polysaccharide content at initial time of experimental must preparation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(2), 115–121.
- Vidal, S., Williams, P., O'Neill, M. A., & Pellerin, P. (2001). Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I: Tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 45, 315–323.
- Vidal, S., Williams, P., Doco, T., Moutounet, M., & Pellerin, P. (2003). The polysaccharides of red wine: Total fractionation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 54, 439–447.
- Vidal, S., Francis, L., Williams, P., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V., & Waters, E. J. (2004). The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine-like medium. *Food Chemistry*, 85, 519–525.
- Waters, E. J., Pellerin, P., & Brillouet, J.-M. (1994). A *Saccharomyces* mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydrates Polymers*, 23, 185–191.
- Yokotsuka, K. (1990). Effect of press design and pressing pressures on grape juice components. *Journal Fermentation and Bioengineering*, 70(1), 15–21.

Annexe 2. Tableau simplifié (pour la détermination de la chaptalisation)



Table simplifiée pour la détermination de la chaptalisation
à partir de la masse volumique à 20°C
Chaptalisation avec du sucre cristallisé



(Quantité de sucre cristallisé en kg à apporter par hL de moût pour obtenir le degré alcoolique désiré en % vol.)

Masse volumique à 20°C (densimètre 1060-1090)	Degré alcoolique probable (16,83 g)	Degré souhaité				
		10,8	10,9	11,0	11,1	11,2
1056	7,5	6,30	6,50	6,70	6,90	7,10
1057	7,6	6,00	6,20	6,40	6,60	6,80
1058	7,8	5,70	5,90	6,10	6,30	6,50
1059	7,9	5,50	5,60	5,80	6,00	6,20
1060	8,1	5,15	5,35	5,50	5,70	5,90
1061	8,2	4,85	5,05	5,25	5,45	5,60
1062	8,4	4,55	4,75	4,95	5,15	5,35
1063	8,6	4,30	4,45	4,65	4,85	5,05
1064	8,7	4,00	4,20	4,35	4,55	4,75
1065	8,9	3,70	3,90	4,10	4,30	4,45
1066	9,0	3,40	3,60	3,80	4,00	4,20
1067	9,2	3,10	3,30	3,50	3,70	3,90
1068	9,3	2,80	3,00	3,20	3,40	3,60
1069	9,5	2,55	2,75	2,90	3,10	3,30
1070	9,6	2,25	2,45	2,65	2,80	3,00
1071	9,8	1,95	2,15	2,35	2,55	2,75
1072	9,9	1,65	1,85	2,05	2,25	2,45
1073	10,1	1,35	1,55	1,75	1,95	2,15
1074	10,2	1,10	1,30	1,50	1,65	1,85
1075	10,4	0,80	1,00	1,20	1,35	1,60
1076	10,5	0,50	0,70	0,90	1,10	1,30
1077	10,7	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00
1078	10,8	-	0,10	0,30	0,50	0,70
1079	11,0	-	-	-	0,20	0,40
1080	11,1	-	-	-	-	0,10

NB : L'expérience de suivi de nombreuses vendanges montre que pour obtenir un degré final de 11 %vol, il est souhaitable de viser 11%vol pour le Chardonnay et 11,2%vol pour le Pinot Noir et le Pinot Meunier.

Annexe 3. La méthode OIV-MA-AS313-15

pH
Résolution OIV-OENO 438-2011

1. Principe

Mesure de la différence de potentiel entre deux électrodes plongées dans le moût ou le vin. L'une des électrodes a un potentiel qui est une fonction définie du pH du liquide, l'autre a un potentiel fixe et connu et constitue l'électrode de référence.

2. Appareillage

2.1 pH mètre étalonné en unités pH permettant des mesures à 0,01 unité près..

2.2 Électrodes :

- électrode de verre, à conserver dans l'eau distillée;
- électrode de référence au calomel-chlorure de potassium saturé, à conserver dans une solution saturée de chlorure de potassium;
- ou électrode combinée à conserver dans l'eau distillée.

3. Réactifs

– Solutions tampons :

- Solution saturée de tartrate acide de potassium. Solution, contenant au moins 5,7 g/l de hydrogénéotartrate de potassium ($\text{HOOC C}_2\text{H}_4\text{O}_2 \text{COOK}$) à 20 °C. Cette solution peut se conserver 2 mois en présence de 0,1 g de thymol pour 200 ml.

$$\text{pH} \left\{ \begin{array}{l} 3,57 \text{ à } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,56 \text{ à } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 3,55 \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array} \right.$$

- Solution 0,05 M de phtalate acide de potassium. Solution contenant 10,211 g/l de hydrogénéophtalate de potassium ($\text{HOOC C}_6\text{H}_4 \text{COOK}$) à 20 °C. (Durée maximale de conservation : 2 mois.)

$$\text{pH} \left\{ \begin{array}{l} 3,999 \text{ à } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,003 \text{ à } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,008 \text{ à } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 4,015 \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array} \right.$$

- Solution contenant :
Dihydrogénophosphate de potassium, KH_2PO_4 3,402 g
Hydrogénophosphate de potassium, K_2HPO_4 4,354 g
Eau q.s.p. 1 l
(Durée maximale de conservation : 2 mois)

$$\text{pH} \left\{ \begin{array}{l} 6,90 \text{ à } 15 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,88 \text{ à } 20 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,86 \text{ à } 25 \text{ }^\circ\text{C} \\ 6,85 \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} \end{array} \right.$$

N.B. :- N.B. Les solutions tampons de référence du commerce traçables au SI peuvent être utilisées.

Par exemple : pH 1,679 \pm 0.01 à 25°C
 pH 4,005 \pm 0.01 à 25°C
 pH 7,000 \pm 0.01 à 25°C

4. Mode opératoire

4.1 Mise au zéro de l'appareil

La mise à zéro s'effectue avant toute mesure, en suivant les indications données pour l'appareil utilisé.

4.2 Étalonnage du pH mètre

L'étalonnage de l'appareil doit être réalisé à 20°C avec des solutions tampon étalon raccordées au SI. Les valeurs de pH choisies doivent encadrer la gamme des valeurs pouvant être rencontrées dans les moûts et les vins. Dans le cas où le matériel utilisé ne permet pas d'assurer un étalonnage avec des valeurs suffisamment basses, une vérification utilisant un solution tampon étalon raccordée au SI et présentant une valeur de pH proche des valeurs des moûts et des vins peut être introduite.

4.3 Mesure

Plonger l'électrode dans le vin ou le moût dont la température doit être comprise entre 20 et 25 °C et aussi proche que possible de 20 °C. Lire directement sur l'échelle la valeur du pH.

Effectuer au moins deux déterminations sur le même vin.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

5. Expression des résultats

OIV-MA-AS313-15 : R2011

Masse volumique et densité relative à 20 °C

1. Définition

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de vin ou de moût à 20 °C par ce volume. Elle s'exprime en grammes par millilitre et son symbole est $\rho_{20\text{ °C}}$.

La densité relative à 20 °C ou densité 20 °C/20 °C est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique du vin ou de moût à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température. Son symbole est : $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$

2. Principe des méthodes

La masse volumique et la densité relative à 20 °C sont déterminées sur l'échantillon pour essai :

- A. soit par pycnométrie,
- B. Soit par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion
- C. Soit par densimétrie utilisant la balance hydrostatique

Remarque : Pour les déterminations très précises, la masse volumique doit être corrigée de l'action du dioxyde de soufre.

$$\begin{aligned}\rho_{20} &= \rho'_{20} - 0.0006 \times S \\ \rho_{20} &= \text{masse volumique corrigée} \\ \rho'_{20} &= \text{masse volumique observée} \\ S &= \text{dioxyde de soufre total en g/l}\end{aligned}$$

3. Traitement préalable de l'échantillon

Si le vin ou le moût contient des quantités notables de dioxyde de carbone, en chasser la plus grande quantité par agitation de 250 ml de vin dans un flacon de 1000 ml, ou par filtration sous pression réduite sur 2 g de coton placé dans une allonge.

4. Masse volumique à 20 °C et densité relative à 20 °C par pycnométrie (Méthode de type I)

4.1.Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

4.1.1. Pycnomètre, en verre pyrex de 100 ml de capacité environ avec un thermomètre mobile à rodage émeri gradué par dixième de degré de 10 à 30 °C. Ce thermomètre doit être contrôlé (fig. 1).

Tout pycnomètre de caractéristiques équivalentes peut être employé.

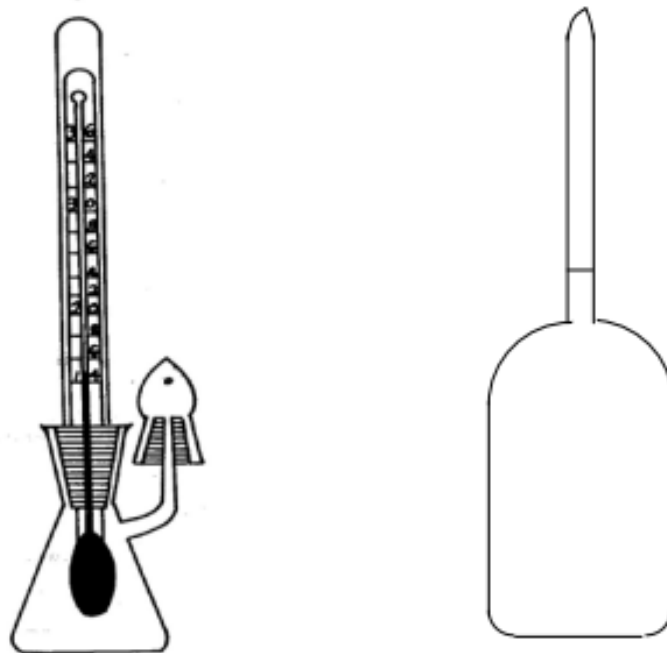


FIGURE 1: Pycnomètre et son flacon tare

Ce pycnomètre comporte un tube latéral de 25 mm de longueur, de 1 mm au plus de diamètre intérieur, terminé par une partie conique rodée. Ce tube latéral peut être coiffé par un «bouchon récepteur» constitué par un tube conique rodé, terminé par une partie effilée. Ce bouchon sert de chambre de dilatation.

Les deux rodages de l'appareil doivent être faits avec un très grand soin.

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$$

0,998203 = masse volumique de l'eau à 20 °C.

4.2.2. Utilisation d'une balance monoplateau

Déterminer :

- la masse du pycnomètre propre et sec : P
- la masse du pycnomètre plein d'eau à $t\text{ °C}$: P_1 en suivant les indications décrites en 4.2.1
- la masse du flacon tare T_0

Calculs *

Tare du pycnomètre vide :

Tare à vide : $P - m$

m = masse d'air contenue dans le pycnomètre

$$m = 0,0012 (P_1 - P).$$

Volume à 20 °C :

$$V_{20\text{ °C}} = [P_1 - (P - m)] \times F_t$$

F_t = facteur relevé dans la table I pour la température $t\text{ °C}$

$V_{20\text{ °C}}$ doit être connu à ± 0.001 ml près.

Masse en eau à 20 °C :

$$M_{20\text{ °C}} = V_{20\text{ °C}} \times 0,998203$$

0,998203 = masse volumique de l'eau à 20 °C.

4.3. Technique d'une mesure : *

4.3.1. Utilisation d'une balance à deux plateaux

Peser le pycnomètre plein de l'échantillon préparé pour essais (3) en suivant les indications décrites en 4.2.1.

Soit p'' la masse en grammes qui réalise l'équilibre à $t\text{ °C}$.

Masse du liquide contenu dans le pycnomètre = $p + m - p''$

Masse volumique apparente à $t\text{ °C}$:

$$\rho_{t\text{ °C}} = \frac{p + m - p''}{V_{20\text{ °C}}}$$

Calculer la masse volumique à 20 °C à l'aide d'une des tables de correction ci-après, suivant la nature du liquide étudié : vin sec (table II), moût naturel ou concentré (table III), vin doux (table IV).

On exprime la densité 20 °C/20 °C du vin en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

* Un exemple numérique est donné en annexe

4.3.2. *Utilisation d'une balance monoplateau **

Peser le flacon tare, soit T_1 sa masse

Calculer $dT = T_1 - T_0$

Masse du pycnomètre vide au moment de la mesure = $P - m + dT$

Peser le pycnomètre plein de l'échantillon préparé pour essais en suivant les indications décrites en 4.2.1.

Soit P_2 sa masse à t °C.

Masse du liquide contenu dans le pycnomètre à t °C = $P_2 (P - m + dT)$

Masse volumique apparente à t °C :

$$\rho_{t^{\circ}\text{C}} = \frac{P_2 - (P - m + dT)}{V_{20^{\circ}\text{C}}}$$

Calculer la masse volumique à 20 °C du liquide étudié : vin sec, moût naturel et concentré, vin doux, comme il est indiqué en 4.3.1.

La densité 20 °C/20 °C est obtenue en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

4.3.3. *Répétabilité* sur la masse volumique :

pour les vins secs et moelleux : $r = 0,00010$

pour les vins doux : $r = 0,00018$

4.3.4. *Reproductibilité* sur la masse volumique :

pour les vins secs et moelleux : $R = 0,00037$

pour les vins doux : $R = 0,00045$.

5. Masse volumique à 20 °C et densité relative à 20 °C mesurées par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion

5.1 Principe

La masse volumique du vin est mesurée par densimétrie électronique utilisant un résonateur de flexion. Le principe consiste à mesurer la période d'oscillation d'un tube contenant l'échantillon soumis à une excitation électromagnétique. La masse volumique est liée à la période d'oscillation par la formule suivante :

$$\rho = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \quad (1)$$

ρ = masse volumique de l'échantillon
T = période de vibration induite
M = masse du tube vide
C = constante de rappel
V = volume de l'échantillon en vibration

Cette relation est de la forme, $\rho = A T^2 - B(2)$, il existe donc une relation linéaire entre la masse volumique et la période élevée au carré. Les constantes A et B sont spécifiques pour chaque oscillateur et sont estimées en mesurant la période de fluides de masse volumique connue.

5.2. Appareillage

5.2.1. Densimètre électronique à résonateur de flexion

Le densimètre électronique comporte les éléments suivants :

- une cellule de mesure comportant le tube de mesure et un contrôleur de température,
- un système de mise en oscillation du tube et de mesure de la période d'oscillation,
- une horloge,
- un afficheur numérique et éventuellement un calculateur.

Le densimètre est placé sur un support parfaitement stable et isolé de toutes vibrations.

5.3. Réactifs et produits

5.3.1 Fluides de référence

Deux fluides de référence servent à ajuster le densimètre. Les masses volumiques des fluides de référence doivent inclure celles des vins à mesurer. Un écart de masse volumique entre les fluides de référence supérieur à 0,01000 g/ml est recommandé. Leur masse volumique doit être connue avec une incertitude inférieure à +/- 0,00005 g/ml, pour une température de 20,00 +/- 0,05 °C.

Les fluides de référence pour la mesure de la masse volumique des vins par densimètre électronique, sont :

- l'air sec (non pollué),
- l'eau bi-distillée ou de pureté analytique équivalente,
- des solutions hydroalcooliques ou des vins de masse volumique déterminée par pycnométrie,

- des solutions raccordées aux étalons nationaux de viscosité inférieure à $2 \text{ mm}^2/\text{s}$.

5.3.2 Produits de nettoyage et de séchage

- détergents, acides, etc.
- solvants organiques : éthanol 96 % vol., acétone pure, etc.

5.4 Contrôle et calibration de l'appareil

5.4.1 Contrôle de la température de la cellule de mesure

Le tube de mesure est situé dans un dispositif thermostaté. La variation de la température doit être inférieure à $\pm 0,02 \text{ }^\circ\text{C}$.

Lorsque le densimètre le permet, il est nécessaire de contrôler la température de la cellule de mesure car celle-ci influence fortement les résultats des déterminations. La masse volumique d'une solution hydroalcoolique de titre alcoométrique volumique (TAV) 10 % vol. est de $0,98471 \text{ g/ml}$ à 20°C et de $0,98447 \text{ g/ml}$ à 21°C , soit un écart de $0,00024 \text{ g/ml}$.

La température d'essai est de $20 \text{ }^\circ\text{C}$. La mesure de la température dans la cellule est réalisée avec un thermomètre d'une résolution de moins de $0,01^\circ\text{C}$ et raccordé aux étalons nationaux. Il convient de garantir une mesure de température d'incertitude inférieure à $\pm 0,07^\circ\text{C}$.

5.4.2 Calibration de l'appareil

L'appareil doit être calibré avant sa première utilisation, puis tous les six mois ou si la vérification ne donne pas satisfaction. L'objectif est d'utiliser deux fluides de référence pour calculer les constantes A et B (cf. (2)). Pour la réalisation de la calibration, se référer au mode d'emploi de l'appareil. En principe cette calibration est effectuée avec de l'air sec (tenir compte de la pression atmosphérique) et de l'eau très pure (bi-distillée et/ou microfiltrée de résistivité très élevée, par exemple $> 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$).

5.4.3 Vérification de la calibration

Pour vérifier la calibration, on mesure la masse volumique des fluides de référence.

- Chaque jour, une vérification de la masse volumique de l'air est réalisée. Un écart entre la masse volumique théorique et celle observée supérieur à $0,00008 \text{ g/ml}$ peut indiquer que le tube est encrassé. Il faut alors le nettoyer. Après nettoyage, on vérifie à nouveau la masse volumique de l'air, si cette vérification n'est pas concluante, il faut ajuster l'appareil.
- On vérifie également la masse volumique de l'eau ; si l'écart entre la masse volumique théorique et celle observée est supérieur à $0,00008 \text{ g/ml}$, on ajuste l'appareil.

- Si la vérification de la température de la cellule est difficile, il est possible de vérifier directement la masse volumique d'une solution hydroalcoolique dont la masse volumique est comparable à celle des vins analysés.

5.4.4 Contrôle

Lorsque la différence entre la masse volumique théorique d'une solution de référence (connue avec une incertitude de +/- 0,00005 g/ml) et la mesure est supérieure à 0,00008 g/ml il est nécessaire de vérifier l'étalonnage de l'appareil.

5.5 Mode opératoire

L'opérateur s'assure de la stabilité de la température de la cellule de mesure. Le vin dans la cellule du densimètre ne doit pas contenir de bulles de gaz et doit être homogène. Si l'on dispose d'un système d'éclairage qui permet de vérifier l'absence de bulles, l'éteindre rapidement après la vérification car la chaleur générée par la lampe influe sur la température de mesure.

Si l'appareil ne donne que la période, on calcule la masse volumique grâce aux constantes A et B (voir la notice de l'appareil).

5.6 Paramètres de précision de la méthode de mesure de la masse volumique par le résonateur de flexion

n	3800
min	0,99187
max	1,01233
r	0.00011
r%	0.011
s _r	0,000038
R	0,00025
s _R	0,000091
R%	0,025

Légende :

n : nombre de valeurs retenues

min : limite inférieure de la plage de mesure

max : limite supérieure de la plage de mesure

r : répétabilité

s_r : écart-type de répétabilité

r% : répétabilité relative (s_r x 100 / valeur moyenne)

R : reproductibilité

s_R : écart-type de reproductibilité

$R\%$: reproductibilité relative ($s_R \times 100 /$ valeur moyenne)

6. Masse volumique à 20 °C et densité relative à 20 °C mesurées par la balance hydrostatique

6.1 Principe

La masse volumique des vins peut être mesurée par densimétrie avec une balance hydrostatique suivant le principe d'Archimède selon lequel tout corps plongé dans un fluide subit une poussée verticale, dirigée de bas en haut, égale au poids du fluide déplacé.

6.2 Appareillage et matériel

Appareillage de laboratoire courant, et notamment :

6.2.1 *Balance hydrostatique monoplateau d'une sensibilité de 1 mg.*

6.2.2 *Flotteur d'un volume d'au moins 20 ml, spécialement adapté à la balance, suspendu par un fil d'un diamètre inférieur ou égal à 0,1 mm.*

6.2.3 *Éprouvette cylindrique* comportant un repère de niveau. Le flotteur doit pouvoir rentrer entièrement dans le volume de l'éprouvette situé au-dessous du repère; la surface du liquide n'étant traversée que par le fil de suspension. L'éprouvette cylindrique doit avoir un diamètre intérieur supérieur d'au moins 6 mm à celui du flotteur.

6.2.4 *Thermomètre* (ou sonde de mesure de la température) gradué en degrés et dixièmes de degré, de 10 à 40 °C, étalonné à $\pm 0,06$ °C près.

6.2.5 *Poids étalonnés* par un organisme de certification reconnu.

6.3 Réactifs

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau au minimum de classe 3, répondant à la définition de la norme ISO 3696:1987.

6.3.1 *Solution de lavage du flotteur* (hydroxyde de sodium, 30 % m/v).

Pour préparer une solution de 100 ml, peser 30 g d'hydroxyde de sodium et porter au volume à l'aide d'éthanol à 96 % vol.

6.4 Mode opératoire

Entre chaque mesure, le flotteur et l'éprouvette doivent être nettoyés à l'eau distillée, essuyés avec un papier de laboratoire doux ne perdant pas ses fibres et rincés avec la solution dont la masse volumique est à déterminer. Les mesures doivent être effectuées lorsque l'appareil est stabilisé afin de minimiser les pertes d'alcool par évaporation.

6.4.1 Étalonnage de la balance

Bien que les balances soient généralement pourvues d'un système d'étalonnage interne, la balance hydrostatique doit pouvoir être étalonnée avec des poids contrôlés par un organisme de certification officiel.

6.4.2 Étalonnage du flotteur

Remplir l'éprouvette cylindrique jusqu'au repère avec de l'eau bidistillée (ou d'une pureté équivalente, par exemple de l'eau microfiltrée d'une conductivité de 18,2 MΩ.cm), dont la température sera comprise entre 15 et 25 °C, mais se situera de préférence à 20 °C.

Plonger le flotteur et le thermomètre dans le liquide, agiter, lire la masse volumique du liquide sur l'appareil et, si nécessaire, corriger cette lecture pour qu'elle soit égale à celle de l'eau à la température de la mesure.

6.4.3 Contrôle à l'aide d'une solution de masse volumique connue

Remplir l'éprouvette cylindrique jusqu'au repère avec une solution de masse volumique connue, dont la température sera comprise entre 15 et 25 °C, mais se situera de préférence à 20 °C.

Plonger le flotteur et le thermomètre dans le liquide, agiter, lire la masse volumique du liquide sur l'appareil ; noter la masse volumique et la température si la masse volumique est mesurée à t °C (ρ_t)

6.4.4 Si nécessaire, corriger ρ_t à l'aide de la table des masses et des mélanges hydroalcooliques [table II de l'annexe II du recueil des méthodes d'analyse de l'OIV.

La masse volumique ainsi établie doit être identique à celle qui est connue.

Remarque 2 : cette solution de masse volumique connue peut également remplacer l'eau bidistillée pour l'étalonnage du flotteur.

6.4.5 Mesure de la masse volumique d'un vin

Verser l'échantillon pour essai dans l'éprouvette cylindrique jusqu'au repère de niveau.

Plonger le flotteur et le thermomètre dans le liquide, agiter, lire la masse volumique du liquide sur l'appareil. Noter la température si la masse volumique est mesurée à t °C (ρ_t).

Corriger ρ à l'aide de la table des masses ρ_t des mélanges hydroalcooliques [table II de l'annexe II du recueil des méthodes d'analyse de l'OIV].

6.4.6 Nettoyage du flotteur et de l'éprouvette cylindrique.

Plonger le flotteur dans la solution de lavage versée dans l'éprouvette.

Laisser tremper une heure en tournant le flotteur régulièrement.

Rincer abondamment à l'eau du robinet, puis à l'eau distillée.

Essuyer avec un papier de laboratoire doux ne perdant pas ses fibres.

Réaliser ces opérations lors de la première utilisation du flotteur, puis régulièrement dès que nécessaire.

6.5 Paramètres de précision pour la mesure de la masse volumique par la balance hydrostatique

n	4347
min	0,99189
max	1,01229
r	0,00025
s_r	0,000090
$r\%$	0,025
R	0,00067
s_R	0,00024
$R\%$	0,067

Légende :

n : nombre de valeurs retenues

min : limite inférieure de la plage de mesure

max : limite supérieure de la plage de mesure

r : répétabilité

s_r : écart-type de répétabilité

$r\%$: répétabilité relative ($s_r \times 100 /$ valeur moyenne)

R : reproductibilité

s_R : écart-type de reproductibilité

$R\%$: reproductibilité relative ($s_R \times 100 /$ valeur moyenne)

6.6 Comparaison des résultats pour les méthodes de mesure de la masse volumique par le résonateur de flexion et la balance hydrostatique

À partir d'échantillons dont la masse volumique est comprise entre 0,992 et 1,012 g/ml, il a été procédé à la mesure de la répétabilité et de la reproductibilité lors d'un essai inter laboratoire. Une comparaison a été effectuée entre la masse volumique de différents échantillons mesurés par la balance hydrostatique et par le densimètre électronique, incluant les valeurs de répétabilité et de reproductibilité dérivées des essais d'intercomparaison pluriannuels effectués sur une grande échelle.

6.6.1 Échantillons

Des vins de différentes masses volumiques et titres alcoométriques préparés mensuellement à une échelle industrielle, tirés d'un stock de bouteilles conservées dans des conditions normales, et fournis de manière anonyme aux laboratoires.

6.6.2 Laboratoires

Laboratoires participant aux essais mensuels organisés par Unione Italiana Vini (Vérone, Italie) d'après la réglementation ISO 5725 (UNI 9225) et le « International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories » établi par l'AOAC, l'ISO et l'IUPAC, et d'après les lignes directrices ISO 43 et ILAC G13. Un rapport annuel est fourni par l'organisation citée à tous les participants.

6.6.3 Appareils

6.6.3.1 Une balance hydrostatique électronique (dont la précision permet de donner la 5^{ème} décimale), si possible équipée d'un appareil de traitement de données.

6.6.3.2 Un densimètre électronique, équipé si possible d'un échantillonneur automatique.

6.6.4 Analyses

D'après les règles de validation des méthodes d'analyse, chaque échantillon est analysé deux fois consécutives pour déterminer le titre alcoométrique.

6.6.5 Résultats

Le tableau 1 montre les résultats des mesures obtenues par les laboratoires utilisant une balance hydrostatique.

Le tableau 2 montre les résultats obtenus par les laboratoires utilisant un densimètre électronique.

6.6.6 Evaluations des résultats

6.6.6.1 Les résultats des essais ont été examinés pour mettre en évidence l'erreur systématique individuelle ($p < 0,025$) en utilisant successivement les tests de Cochran et de Grubbs, selon les procédures internationalement acceptées décrites dans le « Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies » (protocole pour la conception, la conduite et l'interprétation des études de performance des méthodes).

6.6.6.2 Répétabilité (r) et reproductibilité (R)

Les calculs de répétabilité (r) et reproductibilité (R) définies par le protocole ont été effectués sur les résultats restant après élimination des valeurs aberrantes. Lors de l'évaluation d'une nouvelle méthode, il est fréquent qu'il n'existe pas de méthode de référence validée ou de méthode statutaire pour comparer les critères de précision ; pour comparer les données de précision obtenues lors des essais collaboratifs on se réfère donc à des niveaux de précision « estimés ». Ces niveaux « estimés » sont calculés d'après la formule d'Horwitz. La comparaison des résultats d'essais et les niveaux prévus indiquent si la méthode est suffisamment précise pour le niveau d'analyte mesuré. La valeur prédite d'Horwitz est calculée par la formule d'Horwitz.

$$RSDR = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

où C est la concentration mesurée d'analyte exprimée en décimales (par ex. 1 g/100 g = 0,01).

La valeur Horrat donne une comparaison de la précision actuelle déterminée avec la précision prédite par la formule d'Horwitz pour la méthode et au niveau particulier de concentration de l'analyte ; elle est calculée comme suit :

$$HoR = RSDR(\text{mesurée})/RSDR(\text{Horwitz})$$

6.6.6.3 Précision inter laboratoires

Une valeur Horrat de 1 indique normalement une précision inter laboratoires satisfaisante, alors qu'une valeur supérieure à 2 indique normalement une précision non satisfaisante, i.e. une précision trop variable pour des raisons analytiques ou quand la variation obtenue est plus élevée que celle estimée pour la méthode employée. Hor est aussi calculé et utilisé pour déterminer la précision intra laboratoire en utilisant l'approximation suivante :

$$RSDr(\text{Horwitz}) = 0,66 RSDR(\text{Horwitz}) \text{ (ce qui suppose l'approximation suivante: } r = 0,66 R)$$

Le tableau 3 montre les différences entre les mesures obtenues par les laboratoires utilisant le densimètre électronique et ceux utilisant la balance hydrostatique.

6.6.6.4 Paramètres de précision

Le tableau 4 montre la moyenne générale des paramètres de précision calculée à partir de tous les essais mensuels qui se sont déroulés entre janvier 2008 et décembre 2010.

OIV-MA-AS2-01A

15

OIV-MA-AS2-01A

16

Tableau 1 : Balance hydrostatique (BH)

Échantillon	Moyenne	Valeurs totales	Valeurs retenues	répétabilité	s _e	RSDr	Hor	Reproductibilité	s _g	RSDRcalc	HoR	n° répét.	CrD95
01/08	0.995491	130	120	0.0001701	0.0000607	0.0061016	0.0046193	0.0005979	0.0002135	0.0214502	0.0107178	2	0.0004141
02/08	1.011475	146	125	0.0004714	0.0001684	0.0166457	0.0126320	0.0008705	0.0003109	0.0307366	0.0153947	2	0.0005686
03/08	0.992473	174	161	0.0001470	0.0000525	0.0052898	0.0040029	0.0004311	0.0001540	0.0151540	0.0077482	2	0.0002959
04/08	0.993147	172	155	0.0002761	0.0000986	0.0099274	0.0075130	0.0005446	0.0001945	0.0195839	0.0097818	2	0.0003595
05/08	1.004836	150	138	0.0001882	0.0000672	0.0066905	0.0050723	0.0007495	0.0002677	0.0266373	0.0133283	2	0.0005215
06/08	0.993992	152	136	0.0001486	0.0000531	0.0053391	0.0040411	0.0005302	0.0001894	0.0190506	0.0095167	2	0.0003675
07/08	0.992447	162	150	0.0002660	0.0000950	0.0095709	0.0072424	0.0006046	0.0002159	0.0217575	0.0108664	2	0.0004063
08/08	0.992210	162	151	0.0002619	0.0000935	0.0094281	0.0071341	0.0006309	0.0002253	0.0227108	0.0113420	2	0.0004265
09/08	1.002600	148	131	0.0001093	0.0000390	0.0038920	0.0029496	0.0007000	0.0002500	0.0249341	0.0124719	2	0.0004919
10/08	0.994482	174	152	0.0001228	0.0000439	0.0044105	0.0033385	0.0004250	0.0001518	0.0152645	0.0076259	2	0.0002942
11/08	0.992010	136	125	0.0000909	0.0000325	0.0032742	0.0024775	0.0004256	0.0001520	0.0153217	0.0076516	2	0.0002975
01/09	0.994184	174	152	0.0001655	0.0000591	0.0059435	0.0044987	0.0005439	0.0001942	0.0195384	0.0097606	2	0.0003756
02/09	0.992266	118	101	0.0001742	0.0000622	0.0062682	0.0047431	0.0005210	0.0001861	0.0187534	0.0093658	2	0.0003580
03/09	0.991886	164	135	0.0000661	0.0000661	0.0066603	0.0050395	0.0004781	0.0001707	0.0172136	0.0085963	2	0.0003251
04/09	0.993632	180	150	0.0001523	0.0000544	0.0054754	0.0041440	0.0004270	0.0001525	0.0153476	0.0076664	2	0.0002922
05/09	1.011061	116	100	0.0003659	0.0001307	0.0129234	0.0098067	0.0008338	0.0002978	0.0294527	0.0147508	2	0.0005605
06/09	0.992063	114	105	0.0002923	0.0001044	0.0105238	0.0079631	0.0005257	0.0001877	0.0189240	0.0094507	2	0.0003418
07/09	0.992708	172	155	0.0002892	0.0001033	0.0104040	0.0078732	0.0006156	0.0002199	0.0221478	0.0110617	2	0.0004106
08/09	0.993064	136	127	0.0002926	0.0001045	0.0105224	0.0079632	0.0007520	0.0002686	0.0270446	0.0135081	2	0.0005112
09/09	1.005285	118	110	0.0002946	0.0001052	0.0104661	0.0079352	0.0007226	0.0002581	0.0256704	0.0128454	2	0.0004892
10/09	0.992905	150	132	0.0002234	0.0000798	0.0080358	0.0060812	0.0004498	0.0001607	0.0161803	0.0080815	2	0.0002978
11/09	0.994016	142	127	0.0001896	0.0000677	0.0068114	0.0051555	0.0004739	0.0001693	0.0170278	0.0085062	2	0.0003214
01/10	0.994734	170	152	0.0002125	0.0000759	0.0076288	0.0057748	0.0005406	0.0001931	0.0194104	0.0096975	2	0.0003672
02/10	0.993177	120	110	0.0002210	0.0000789	0.0079467	0.0060140	0.0005800	0.0002071	0.0208565	0.0104175	2	0.0003950
03/10	0.992799	148	136	0.0002277	0.0000813	0.0081923	0.0061995	0.0005157	0.0005413	0.0545262	0.0272335	2	0.0010657
04/10	0.995420	172	157	0.0002644	0.0000944	0.0094866	0.0071819	0.0006286	0.0002245	0.0225542	0.0112693	2	0.0004244
05/10	1.002963	120	108	0.0007086	0.0002531	0.0252330	0.0191244	0.0013667	0.0004881	0.0486677	0.0243447	2	0.0008991
06/10	0.992546	120	113	0.0001737	0.0000620	0.0062506	0.0047300	0.0005435	0.0001941	0.0195567	0.0097673	2	0.0003744
07/10	0.992831	174	152	0.0003003	0.0001073	0.0108301	0.0081753	0.0006976	0.0002492	0.0250959	0.0125344	2	0.0004699
08/10	0.993184	144	130	0.0001799	0.0000642	0.0064674	0.0048945	0.0005951	0.0002125	0.0213984	0.0106882	2	0.0004111
09/10	1.012293	114	103	0.0002265	0.0000809	0.0079907	0.0060647	0.0014586	0.0005209	0.0514596	0.0257772	2	0.0010251
10/10	0.992289	154	136	0.0006386	0.0002281	0.0229860	0.0173933	0.0007033	0.0002512	0.0253124	0.0126415	2	0.0003812
11/10	0.994649	130	112	0.0002902	0.0001036	0.0104200	0.0078876	0.0005287	0.0001888	0.0189830	0.0094838	2	0.0003445

RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV
Masse volumique et densité relative à 20°C – Méthodes Type I

Tableau 2 : Densimètre électronique (DE)

Échantillon	Moyenne	Valeurs totales	Valeurs retenues	répétabilité	s _e	RSDr	Hor	Reproductibilité	s _g	RSDRcalc	HoR	n° répét.	CrD95
01/08	0.995504	114	108	0.0000755	0.0000270	0.0027085	0.0020505	0.0001571	0.0000561	0.0056361	0.0028162	2	0.0001045
02/08	1.011493	132	125	0.0001921	0.0000686	0.0067837	0.0051480	0.0004435	0.0001584	0.0156582	0.0078426	2	0.0002985
03/08	0.992491	138	118	0.0000746	0.0000266	0.0026830	0.0020303	0.0002745	0.0000980	0.0098776	0.0049322	2	0.0001905
04/08	0.993129	132	120	0.0001290	0.0000439	0.0044247	0.0033486	0.0002863	0.0001023	0.0102963	0.0051429	2	0.0001929
05/08	1.004892	136	116	0.0000926	0.0000331	0.0032893	0.0024937	0.0004777	0.0001706	0.0169785	0.0084955	2	0.0003246
06/08	0.994063	142	123	0.0000558	0.0000199	0.0020951	0.0015177	0.0001776	0.0000634	0.0063791	0.0031867	2	0.0001224
07/08	0.992498	136	125	0.0000822	0.0000294	0.0029576	0.0022381	0.0002094	0.0000748	0.0075368	0.0037641	2	0.0001423
08/08	0.992270	130	115	0.0000515	0.0000184	0.0018537	0.0014027	0.0001665	0.0000595	0.0059940	0.0029935	2	0.0001149
09/08	1.002603	136	121	0.0000821	0.0000293	0.0029236	0.0022157	0.0003328	0.0001189	0.0118565	0.0059306	2	0.0002318
10/08	0.994493	128	117	0.0000667	0.0000238	0.0023954	0.0018132	0.0001429	0.0000510	0.0051309	0.0025633	2	0.0000954
11/08	0.992017	118	104	0.0000842	0.0000301	0.0030309	0.0022933	0.0001962	0.0000701	0.0070644	0.0035279	2	0.0001322
01/09	0.994216	148	131	0.0000830	0.0000297	0.0029832	0.0022580	0.0001551	0.0000554	0.0055712	0.0027832	2	0.0001015
02/09	0.992251	104	88	0.0000947	0.0000338	0.0034097	0.0025801	0.0002846	0.0001017	0.0102451	0.0051165	2	0.0001956
03/09	0.991875	126	108	0.0001271	0.0000454	0.0045777	0.0034637	0.0002067	0.0000738	0.0074421	0.0037165	2	0.0001316
04/09	0.993654	134	114	0.0001166	0.0000416	0.0041899	0.0031711	0.0002043	0.0000730	0.0073417	0.0036673	2	0.0001322
05/09	1.011035	128	104	0.0002388	0.0000853	0.0084361	0.0064016	0.0003554	0.0001269	0.0125542	0.0062875	2	0.0002211
06/09	0.992104	116	106	0.0001005	0.0000359	0.0036178	0.0027375	0.0003169	0.0001132	0.0114088	0.0056976	2	0.0002184
07/09	0.992720	144	140	0.0001579	0.0000564	0.0056815	0.0042995	0.0002916	0.0001042	0.0104923	0.0052404	2	0.0001905
08/09	0.993139	110	102	0.0001175	0.0000420	0.0042242	0.0031969	0.0003603	0.0001287	0.0129577	0.0064721	2	0.0002479
09/09	1.005276	112	108	0.0001100	0.0000393	0.0039070	0.0029622	0.0003522	0.0001258	0.0125134	0.0062617	2	0.0002429
10/09	0.992912	122	111	0.0000705	0.0000252	0.0025365	0.0019195	0.0002122	0.0000758	0.0076315	0.0038117	2	0.0001458
11/09	0.994031	128	118	0.0000718	0.0000256	0.0025784	0.0019516	0.0001639	0.0000585	0.0058883	0.0029415	2	0.0001102
01/10	0.994752	144	136	0.0000773	0.0000276	0.0027765	0.0021017	0.0001787	0.0000638	0.0064144	0.0032046	2	0.0001203
02/10	0.993181	108	98	0.0001471	0.0000525	0.0052893	0.0040029	0.0001693	0.0000605	0.0060884	0.0030410	2	0.0000945
03/10	0.992665	140	127	0.0001714	0.0000612	0.0061683	0.0046678	0.0002378	0.0000849	0.0085559	0.0042732	2	0.0001447
04/10	0.995502	142	128	0.0001175	0.0000419	0.0042138	0.0031901	0.0002320	0.0000829	0.0083248	0.0041596	2	0.0001532
05/10	1.002851	130	119	0.0001195	0.0000427	0.0042555	0.0032253	0.0002971	0.0001061	0.0105815	0.0052930	2	0.0002014
06/10	0.992607	106	99	0.0001228	0.0000438	0.0044172	0.0033427	0.0002226	0.0000795	0.0080092	0.0040001	2	0.0001449
07/10	0.992871	160	150	0.0001438	0.0000513	0.0051712	0.0039134	0.0003732	0.0001333	0.0134258	0.0067057	2	0.0002539
08/10	0.993325	104	93	0.0000895	0.0000320	0.0032182	0.0024356	0.0002458	0.0000878	0.0088399	0.0044154	2	0.0001680
09/10	1.012328	112	105	0.0000870	0.0000311	0.0030692	0.0023295	0.0003395	0.0001213	0.0119781	0.0060001	2	0.0002361
10/10	0.992308	128	115	0.0000606	0.0000216	0.0021811	0.0016504	0.0001635	0.0000584	0.0058845	0.0029388	2	0.0001116
11/10	0.994683	120	108	0.0001127	0.0000402	0.0040450	0.0030620	0.0001597					

Tableau 3 : Comparaison des résultats entre la balance hydrostatique (BH) et la densimétrie électronique (DE)

Masse volumique - Balance hydrostatique				Masse volumique - Résonateur de flexion				Comparaison
Échantillon	Valeur moyenne	Valeurs totales	Valeurs retenues	Échantillon	Valeur moyenne	Valeurs totales	Valeurs retenues	$\Delta(BH-DE)$
01/08	0,995491	130	120	01/08	0,995504	114	108	-0,000013
02/08	1,011475	146	125	02/08	1,011493	132	125	-0,000018
03/08	0,992473	174	161	03/08	0,992491	138	118	-0,000018
04/08	0,993147	172	155	04/08	0,993129	132	120	0,000018
05/08	1,004836	150	138	05/08	1,004892	136	116	-0,000056
06/08	0,993992	152	136	06/08	0,994063	142	123	-0,000071
07/08	0,992447	162	150	07/08	0,992498	136	125	-0,000051
08/08	0,992210	162	151	08/08	0,992270	130	115	-0,000060
09/08	1,002600	148	131	09/08	1,002603	136	121	-0,000003
10/08	0,994482	174	152	10/08	0,994493	128	117	-0,000011
11/08	0,992010	136	125	11/08	0,992017	118	104	-0,000007
01/09	0,994184	174	152	01/09	0,994216	148	131	-0,000031
02/09	0,992266	118	101	02/09	0,992251	104	88	0,000015
03/09	0,991886	164	135	03/09	0,991875	126	108	0,000011
04/09	0,993632	180	150	04/09	0,993654	134	114	-0,000022
05/09	1,011061	116	100	05/09	1,011035	128	104	0,000026
06/09	0,992063	114	105	06/09	0,992104	116	106	-0,000041
07/09	0,992708	172	155	07/09	0,992720	144	140	-0,000012
08/09	0,993064	136	127	08/09	0,993139	110	102	-0,000075
09/09	1,005285	118	110	09/09	1,005276	112	108	0,000009
10/09	0,992905	150	132	10/09	0,992912	122	111	-0,000008
11/09	0,994016	142	127	11/09	0,994031	128	118	-0,000015
01/10	0,994734	170	152	01/10	0,994752	144	136	-0,000018
02/10	0,993177	120	110	02/10	0,993181	108	98	-0,000005
03/10	0,992799	148	136	03/10	0,992665	140	127	0,000134
04/10	0,995420	172	157	04/10	0,995502	142	128	-0,000082
05/10	1,002963	120	108	05/10	1,002851	130	119	0,000112
06/10	0,992546	120	113	06/10	0,992607	106	99	-0,000061
07/10	0,992831	174	152	07/10	0,992871	160	150	-0,000040
08/10	0,993184	144	130	08/10	0,993235	104	93	-0,000052
09/10	1,012293	114	103	09/10	1,012328	112	105	-0,000035
10/10	0,992289	154	136	10/10	0,992308	128	115	-0,000019
11/10	0,994649	130	112	11/10	0,994683	120	108	-0,000035
					moyenne	$\Delta(BH-DE)$		-0,0000162
					écart-type	$\Delta(BH-DE)$		0,0000447

Tableau 4: Paramètres de précision

	balance hydrostatique (BH)	densimétrie électronique (DE)
n° valeurs retenues	4347	3800
min	0,99189	0,99187
max	1,01229	1,01233
R	0,00067	0,00025
S_n	0,00024	0,000091
R%	0,067	0,025
r	0,00025	0,00011
s_r	0,000090	0,000038
r%	0,025	0,011

ANNEXE I

Méthode de référence : exemple numérique

I. Pycnométrie sur balance à deux plateaux

A/ Établissement des constantes du pycnomètre

1. Pesée du pycnomètre propre et sec :

$$\text{Tare} = \text{pycnomètre} + p$$

$$p = 104,9454 \text{ g}$$

2. Pesée du pycnomètre plein d'eau à la température t °C :

$$\text{Tare} = \text{pycnomètre} + \text{eau} + p'$$

$$p' = 1,2396 \text{ g pour } t = 20,5 \text{ °C}$$

3. Calcul de la masse d'air contenue dans le pycnomètre :

$$m = 0,0012 (p - p')$$

$$m = 0,0012 (104,9454 - 1,2396)$$

$$m = 0,1244$$

4. Caractéristiques à retenir :

$$\text{Tare du pycnomètre vide} : p + m$$

$$p + m = 104,9454 + 0,1244$$

$$p + m = 105,0698 \text{ g}$$

$$\text{Volume à } 20 \text{ °C} = (p + m - p') \times F_t \text{ °C}$$

$$F_{20,50 \text{ °C}} = 1,001900$$

$$V_{20 \text{ °C}} = (105,0698 - 1,2396) \times 1,001900$$

$$V_{20 \text{ °C}} = 104,0275 \text{ mL}$$

$$\text{Masse en eau à } 20 \text{ °C} = V_{20 \text{ °C}} \times 0,998203$$

$$M_{20 \text{ °C}} = 103,8405 \text{ g}$$

B/ Détermination de la masse volumique à 20 °C et de la densité 20 °C/20 °C d'un vin sec :

$$p'' = 1,2622 \text{ à } 17,80 \text{ °C}$$

$$\rho_{17,80 \text{ °C}} = \frac{105,0698 - 1,2622}{104,0275}$$

$$\rho_{17,80 \text{ °C}} = 0,99788$$

La table II permet de calculer $\rho_{20 \text{ °C}}$ à partir de $\rho_t \text{ °C}$ à l'aide de la relation :

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_t \text{ °C} \pm \frac{c}{1000}$$

Pour $t = 17,80 \text{ °C}$ et pour un titre alcoométrique de 11% vol., on trouve $c = 0,54$:

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99788 - \frac{0,54}{1000}$$

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99734 \text{ g/ml}$$

$$d_{20 \text{ °C}}^{20 \text{ °C}} = \frac{0,99734}{0,998203} = 0,99913$$

II. Pycnomètre sur balance monoplateau**A/ Établissement des constantes du pycnomètre**

1. Pesée du pycnomètre propre et sec :

$$P = 67,7913 \text{ g}$$

2. Pesée du pycnomètre plein d'eau à la température
- t
- °C :

$$P_1 = 169,2715 \text{ g à } 21,65 \text{ °C}$$

3. Calcul de la masse d'air contenue dans le pycnomètre :

$$m = 0,0012 (P_1 - P)$$

$$m = 0,0012 \times 101,4802$$

$$m = 0,1218 \text{ g}$$

4. Caractéristique à retenir :

Tare du pycnomètre vide : $P - m$

$$P - m = 67,7913 - 0,1218$$

$$P - m = 67,6695 \text{ g}$$

Volume à 20 °C = $[P_1 - (P - m)] \times F_{t \text{ °C}}$

$$F_{21,65 \text{ °C}} = 1,002140$$

$$V_{20 \text{ °C}} = (169,2715 - 67,6695) \times 1,002140$$

$$V_{20 \text{ °C}} = 101,8194 \text{ ml}$$

Masse en eau à 20 °C = $V_{20 \text{ °C}} \times 0,998203$

$$M_{20 \text{ °C}} = 101,6364 \text{ g}$$

Masse du flacon tare : T_0

$$T_0 = 171,9160 \text{ g}$$

B/ Détermination de la masse volumique à 20 °C et de la densité 20 °C/20 °C d'un vin sec :

$$T_1 = 171,9178$$

$$dT = 171,9178 - 171,9160 = +0,0018 \text{ g}$$

$$P - m + dT = 67,6695 + 0,0018 = 67,6713 \text{ g}$$

$$P_2 = 169,2799 \text{ à } 18 \text{ °C}$$

$$\rho_{18 \text{ °C}} = \frac{169,2799 - 67,6713}{101,8194}$$

$$\rho_{18 \text{ °C}} = 0,99793 \text{ g/ml}$$

La Table II permet de calculer $\rho_{20 \text{ °C}}$ à partir de $\rho_{t \text{ °C}}$ à l'aide de la relation :

$$\rho_{20 \text{ °C}} = \rho_{t \text{ °C}} \pm \frac{c}{1000}$$

Pour $t = 18 \text{ °C}$ et pour un titre alcoométrique de 11% vol., on trouve $c = 0,49$:

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99793 - \frac{0,49}{1000}$$

$$\rho_{20 \text{ °C}} = 0,99744 \text{ g/ml}$$

$$d_{20 \text{ °C}}^{20 \text{ °C}} = \frac{0,99744}{0,998203} = 0,99923$$

ANNEXE II

Tables

TABLE I

Facteurs F

par lesquels il faut multiplier la masse de l'eau contenue dans le *pycnomètre en pyrex* à $t^{\circ}\text{C}$ pour calculer le volume du pycnomètre à 20°C .

$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F
10,0	1,000398	13,0	1,000691	16,0	1,001097	19,0	1,001608	22,0	1,002215	25,0	1,002916	28,0	1,003704
,1	1,000406	,1	1,000703	,1	1,001113	,1	1,001627	,1	1,002238	,1	1,002941	,1	1,003731
,2	1,000414	,2	1,000714	,2	1,001128	,2	1,001646	,2	1,002260	,2	1,002966	,2	1,003759
,3	1,000422	,3	1,000726	,3	1,001144	,3	1,001665	,3	1,002282	,3	1,002990	,3	1,003797
,4	1,000430	,4	1,000738	,4	1,001159	,4	1,001684	,4	1,002304	,4	1,003015	,4	1,003815
10,5	1,000439	13,5	1,000752	16,5	1,001175	19,5	1,001703	22,5	1,002326	25,5	1,003041	28,5	1,003843
,6	1,000447	,6	1,000764	,6	1,001191	,6	1,001722	,6	1,002349	,6	1,003066	,6	1,003871
,7	1,000456	,7	1,000777	,7	1,001207	,7	1,001741	,7	1,002372	3	1,003092	,7	1,003899
,8	1,000465	,8	1,000789	,8	1,001223	,8	1,001761	,8	1,002394	,8	1,003117	,8	1,003928
,9	1,000474	,9	1,000803	,9	1,001239	9	1,001780	,9	1,002417	,9	1,003143	,9	1,003956
11,0	1,000483	14,0	1,000816	17,0	1,001257	20,0	1,001800	23,0	1,002439	26,0	1,003168	29,0	1,003984
,1	1,000492	,1	1,000829	,1	1,001273	,1	1,001819	,1	1,002462	,1	1,003194	,1	1,004013
,2	1,000501	,2	1,000842	,2	1,001286	,2	1,001839	,2	1,002485	1	1,003222	2	1,004042
3	1,000511	3	1,000855	3	1,001306	,3	1,001959	,3	1,002508	,3	1,003247	,3	1,004071
,4	1,000520	,4	1,000868	,4	1,001323	,4	1,001880	,4	1,002531	,4	1,003273	,4	1,004099
11,5	1,000530	14,5	1,000882	17,5	1,001340	20,5	1,001900	23,5	1,002555	26,5	1,003299	29,5	1,004128
,6	1,000540	,6	1,000895	,6	1,001357	,6	1,001920	,6	1,002578	,6	1,003326	,6	1,004158
,7	1,000550	,7	1,000909	,7	1,001374	,7	1,001941	3	1,002602	,7	1,003352	,7	1,004187
,8	1,000560	,8	1,000923	,8	1,001391	,8	1,001961	,8	1,002625	,8	1,003379	,8	1,004216
,9	1,000570	,9	1,000937	,9	1,001409	,9	1,001982	,9	1,002649	,9	1,003405	,9	1,004245
12,0	1,000580	15,0	1,000951	18,0	1,001427	21,0	1,002002	24,0	1,002672	27,0	1,003432	30,0	1,004275
,1	1,000591	,1	1,000965	,1	1,001445	,1	1,002023	,1	1,002696	,1	1,003459		
,2	1,000601	,2	1,000979	,2	1,001462	,2	1,002044	,2	1,002720	,2	1,003485		
,3	1,000612	,3	1,000993	,3	1,001480	,3	1,002065	,3	1,002745	,3	1,003513		
,4	1,000623	,4	1,001008	,4	1,001498	,4	1,002086	,4	1,002769	,4	1,003540		
12,5	1,000634	15,5	1,001022	18,5	1,001516	21,5	1,002107	24,5	1,002793	27,5	1,003567		
,6	1,000645	,6	1,001037	,6	1,001534	,6	1,002129	,6	1,002817	,6	1,003594		
,7	1,000656	,7	1,001052	,7	1,001552	,7	1,002151	,7	1,002842	,7	1,003621		
,8	1,000668	,8	1,001067	,8	1,001570	,8	1,002172	,8	1,002866	,8	1,003649		
,9	1,000679	,9	1,001082	,9	1,001589	,9	1,002194	,9	1,002891	,9	1,003676		

TABLE II

Corrections de température sur la masse volumique des vins secs et des vins secs débarrassés d'alcool, mesurée dans un pycnomètre en verre pyrex à t °C pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} - \text{si } t^\circ\text{C est inférieure à } 20^\circ\text{C}$$

$$+ \text{si } t^\circ\text{C est supérieure à } 20^\circ\text{C}$$

		Titres alcoométriques																										
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27			
Températures en °C	10	1,59	1,64	1,67	1,71	1,77	1,84	1,91	2,01	2,11	2,22	2,34	2,46	2,60	2,73	2,88	3,03	3,19	3,35	3,52	3,70	3,87	4,06	4,25	4,44			
	11	1,48	1,53	1,56	1,60	1,64	1,70	1,77	1,86	1,95	2,05	2,16	2,27	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,06	3,21	3,36	3,53	3,69	3,86	4,03			
	12	1,36	1,40	1,43	1,46	1,50	1,56	1,62	1,69	1,78	1,86	1,96	2,05	2,16	2,27	2,38	2,50	2,62	2,75	2,88	3,02	3,16	3,31	3,46	3,61			
	13	1,22	1,26	1,28	1,32	1,35	1,40	1,45	1,52	1,59	1,67	1,75	1,83	1,92	2,01	2,11	2,22	2,32	2,44	2,55	2,67	2,79	2,92	3,05	3,18			
	14	1,08	1,11	1,13	1,16	1,19	1,23	1,27	1,33	1,39	1,46	1,52	1,60	1,67	1,75	1,94	1,93	2,03	2,11	2,21	2,31	2,42	2,52	2,63	2,74			
	15	0,92	0,96	0,97	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,19	1,24	1,30	1,36	1,42	1,48	1,55	1,63	1,70	1,78	1,86	1,95	2,03	2,12	2,21	2,30			
	16	0,76	0,79	0,80	0,81	0,94	0,86	0,89	0,93	0,97	1,01	1,06	1,10	1,16	1,21	1,26	1,32	1,38	1,44	1,51	1,57	1,64	1,71	1,78	1,85			
	17	0,59	0,61	0,62	0,63	0,65	0,67	0,69	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,95	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,25	1,30	1,35	1,40			
	18	0,40	0,42	0,42	0,43	0,44	0,46	0,47	0,49	0,51	0,53	0,55	0,57	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,74	0,77	0,81	0,84	0,87	0,91	0,94			
	19	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,42	0,44	0,46	0,47			
	20																											
	21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,38	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48			
	22	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,49	0,51	0,52	0,54	0,56	0,59	0,61	0,63	0,66	0,69	0,71	0,74	0,77	0,80	0,83	0,87	0,90	0,93	0,97			
	23	0,68	0,70	0,71	0,72	0,74	0,76	0,78	0,80	0,83	0,86	0,90	0,93	0,96	1,00	1,03	1,08	1,13	1,17	1,22	1,26	1,31	1,37	1,41	1,46			
	24	0,93	0,96	0,97	0,99	1,01	1,03	1,06	1,10	1,13	1,18	1,22	1,26	1,31	1,36	1,41	1,47	1,52	1,58	1,64	1,71	1,77	1,84	1,90	1,97			
	25	1,19	1,23	1,25	1,27	1,29	1,32	1,36	1,40	1,45	1,50	1,55	1,61	1,67	1,73	1,80	1,86	1,93	2,00	2,08	2,16	2,24	2,32	2,40	2,48			
	26	1,47	1,51	1,53	1,56	1,59	1,62	1,67	1,72	1,77	1,83	1,90	1,96	2,03	2,11	2,19	2,27	2,35	2,44	2,53	2,62	2,72	2,81	2,91	3,01			
	27	1,75	1,80	1,82	1,85	1,89	1,93	1,98	2,04	2,11	2,18	2,25	2,33	2,41	2,50	2,59	2,68	2,78	2,88	2,98	3,09	3,20	3,31	3,42	3,53			
	28	2,04	2,10	2,13	2,16	2,20	2,25	2,31	2,38	2,45	2,53	2,62	2,70	2,80	2,89	3,00	3,10	3,21	3,32	3,45	3,57	3,69	3,82	3,94	4,07			
	29	2,34	2,41	2,44	2,48	2,53	2,58	2,65	2,72	2,81	2,89	2,99	3,09	3,19	3,30	3,42	3,53	3,65	3,78	3,92	4,05	4,19	4,33	4,47	4,61			
	30	2,66	2,73	2,77	2,81	2,86	2,92	3,00	3,08	3,17	3,27	3,37	3,48	3,59	3,72	3,84	3,97	4,11	4,25	4,40	4,55	4,70	4,85	4,92	5,17			

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_t^{20} en d_{20}^{20}

TABLE III

Corrections c de température sur la masse volumique des moûts naturels et des moûts concentrés mesurée à t ° à l'aide d'un pycnomètre en verre pyrex, pour ramener les résultats à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} - \text{si } t^\circ\text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C}$$

$$+ \text{si } t^\circ\text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C}$$

		Masses volumiques																						
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36	
Températures en °C	10	2,31	2,48	2,66	2,82	2,99	3,13	3,30	3,44	3,59	3,73	3,88	4,01	4,28	4,52	4,76	4,98	5,18	5,42	5,56	5,73	5,90	6,05	
	11	2,12	2,28	2,42	2,57	2,72	2,86	2,99	3,12	3,25	3,37	3,50	3,62	3,85	4,08	4,29	4,48	4,67	4,84	5,00	5,16	5,31	5,45	
	12	1,92	2,06	2,19	2,32	2,45	2,58	2,70	2,92	2,94	3,04	3,15	3,26	3,47	3,67	3,85	4,03	4,20	4,36	4,51	4,65	4,78	4,91	
	13	1,72	1,84	1,95	2,06	2,17	2,27	2,38	2,48	2,58	2,69	2,78	2,89	3,05	3,22	3,39	3,55	3,65	3,84	3,98	4,11	4,24	4,36	
	14	1,52	1,62	1,72	1,81	1,90	2,00	2,09	2,17	2,26	2,34	2,43	2,51	2,66	2,82	2,96	3,09	3,22	3,34	3,45	3,56	3,67	3,76	
	15	1,28	1,36	1,44	1,52	1,60	1,67	1,75	1,82	1,89	1,96	2,04	2,11	2,24	2,36	2,48	2,59	2,69	2,79	2,88	2,97	3,03	3,10	
	16	1,05	1,12	1,18	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,55	1,60	1,66	1,71	1,81	1,90	2,00	2,08	2,16	2,24	2,30	2,37	2,43	2,49	
	17	0,80	0,86	0,90	0,95	1,00	1,04	1,09	1,13	1,18	1,22	1,26	1,30	1,37	1,44	1,51	1,57	1,62	1,68	1,72	1,76	1,80	1,84	
	18	0,56	0,59	0,62	0,66	0,68	0,72	0,75	0,77	0,80	0,83	0,85	0,88	0,93	0,98	1,02	1,05	1,09	1,12	1,16	1,19	1,21	1,24	
	19	0,29	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,59	0,60	0,61	0,62	
	20																							
	21	0,29	0,30	0,32	0,34	0,35	0,37	0,38	0,40	0,41	0,42	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,58	0,59	0,60	0,61	0,62	0,62	
	22	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,79	0,81	0,84	0,87	0,90	0,96	1,03	1,05	1,09	1,12	1,15	1,18	1,20	1,22	1,23	
	23	0,89	0,94	0,99	1,03	1,08	1,12	1,16	1,20	1,25	1,29	1,33	1,37	1,44	1,51	1,57	1,63	1,67	1,73	1,77	1,80	1,82	1,94	
	24	1,20	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,66	1,71	1,77	1,82	1,92	2,01	2,10	2,17	2,24	2,30	2,36	2,40	2,42	2,44	
	25	1,51	1,59	1,66	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,23	2,30	2,42	2,53	2,63	2,72	2,82	2,89	2,95	2,99	3,01	3,05	
	26	1,84	1,92	2,01	2,10	2,18	2,26	2,34	2,42	2,50	2,58	2,65	2,73	2,87	3,00	3,13	3,25	3,36	3,47	3,57	3,65	3,72	3,79	
	27	2,17	2,26	2,36	2,46	2,56	2,66	2,75	2,84	2,93	3,01	3,10	3,18	3,35	3,50	3,66	3,80	3,93	4,06	4,16	4,26	4,35	4,42	
	28	2,50	2,62	2,74	2,85	2,96	3,07	3,18	3,28	3,40	3,50	3,60	3,69	3,87	4,04	4,21	4,36	4,50	4,64	4,75	4,86	4,94	5,00	
	29	2,86	2,98	3,10	3,22	3,35	3,47	3,59	3,70	3,82	3,93	4,03	4,14	4,34	4,53	4,72	4,89	5,05	5,20	5,34	5,46	5,56	5,64	
	30	3,20	3,35	3,49	3,64	3,77	3,91	4,05	4,17	4,30	4,43	4,55	4,67	4,90	5,12	5,39	5,51	5,68	5,94	5,96	6,09	6,16	6,22	

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_t^{20} en d_{20}^{20}

TABLE IV
 Corrections de températures sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à l'aide d'un pycnomètre en *verre pyrex*, à t° pour la ramener à 20 °C,
 $\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000}$ - si t° est inférieure à 20 °C
 + if t° est supérieure à 20 °C

	Vins de 13% vol,							Vins de 15% vol,							Vins de 17% vol,						
	Masses volumiques							Masses volumiques							Masses volumiques						
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
10	2,36	2,71	3,06	3,42	3,72	3,96	4,32	2,64	2,99	3,36	3,68	3,99	4,30	4,59	2,94	3,29	3,64	3,98	4,29	4,60	4,89
11	2,17	2,49	2,80	2,99	3,39	3,65	3,90	2,42	2,73	3,05	3,34	3,63	3,89	4,15	2,69	3,00	3,32	3,61	3,90	4,16	4,41
12	1,97	2,25	2,53	2,79	3,05	3,29	3,52	2,19	2,47	2,75	3,01	3,27	3,51	3,73	2,42	2,70	2,98	3,24	3,50	3,74	3,96
13	1,78	2,02	2,25	2,47	2,69	2,89	3,09	1,97	2,21	2,44	2,66	2,87	3,08	3,29	2,18	2,42	2,64	2,87	3,08	3,29	3,49
14	1,57	1,78	1,98	2,16	2,35	2,53	2,70	1,74	1,94	2,14	2,32	2,52	2,69	2,86	1,91	2,11	2,31	2,50	2,69	2,86	3,03
15	1,32	1,49	1,66	1,82	1,97	2,12	2,26	1,46	1,63	1,79	1,95	2,10	2,25	2,39	1,60	1,77	1,93	2,09	2,24	2,39	2,53
16	1,08	1,22	1,36	1,48	1,61	1,73	1,84	1,18	1,32	1,46	1,59	1,71	1,83	1,94	1,30	1,44	1,58	1,71	1,83	1,95	2,06
17	0,83	0,94	1,04	1,13	1,22	1,31	1,40	0,91	1,02	1,12	1,21	1,30	1,39	1,48	1,00	1,10	1,20	1,30	1,39	1,48	1,56
18	0,58	0,64	0,71	0,78	0,84	0,89	0,95	0,63	0,69	0,76	0,83	0,89	0,94	1,00	0,69	0,75	0,82	0,89	0,95	1,00	1,06
19	0,30	0,34	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,37	0,40	0,43	0,46	0,49	0,52	0,36	0,39	0,42	0,46	0,49	0,52	0,54
20																					
21	0,30	0,33	0,36	0,40	0,43	0,46	0,49	0,33	0,36	0,39	0,43	0,46	0,49	0,51	0,35	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54
22	0,60	0,67	0,73	0,80	0,85	0,91	0,98	0,65	0,72	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	0,71	0,78	0,84	0,90	0,96	1,01	1,07
23	0,93	1,02	1,12	1,22	1,30	1,39	1,49	1,01	1,10	1,20	1,29	1,38	1,46	1,55	1,10	1,19	1,29	1,38	1,46	1,55	1,63
24	1,27	1,39	1,50	1,61	1,74	1,84	1,95	1,37	1,49	1,59	1,72	1,84	1,95	2,06	1,48	1,60	1,71	1,83	1,95	2,06	2,17
25	1,61	1,75	1,90	2,05	2,19	2,33	2,47	1,73	1,87	2,02	2,17	2,31	2,45	2,59	1,87	2,01	2,16	2,31	2,45	2,59	2,73
26	1,94	2,12	2,29	2,47	2,63	2,79	2,95	2,09	2,27	2,44	2,62	2,78	2,94	3,10	2,26	2,44	2,61	2,79	2,95	3,11	3,26
27	2,30	2,51	2,70	2,90	3,09	3,27	3,44	2,48	2,68	2,87	3,07	3,27	3,45	3,62	2,67	2,88	3,07	3,27	3,46	3,64	3,81
28	2,66	2,90	3,13	3,35	3,57	3,86	4,00	2,86	3,10	3,23	3,55	3,77	3,99	4,20	3,08	3,31	3,55	3,76	3,99	4,21	4,41
29	3,05	3,31	3,56	3,79	4,04	4,27	4,49	3,28	3,53	3,77	4,02	4,26	4,49	4,71	3,52	3,77	4,01	4,26	4,50	4,73	4,95
30	3,44	3,70	3,99	4,28	4,54	4,80	5,06	3,68	3,94	4,23	4,52	4,79	5,05	5,30	3,95	4,22	4,51	4,79	5,07	5,32	5,57

TABLE IV (suite)

corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur mesurée à l'aide d'un pycnomètre en *verre pyrex*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieure à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{if } t^\circ \text{ est supérieure à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Vins de 19% vol,						Vins de 21% vol,							
		Masses volumiques						Masses volumiques							
		1,000	1,020	1,040	1,060	1,000	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
Températures en °C	10	3,27	3,62	3,97	4,30	4,62	4,92	5,21	3,62	3,97	4,32	4,66	4,97	5,27	5,56
	11	2,99	3,30	3,61	3,90	4,19	4,45	4,70	3,28	3,61	3,92	4,22	4,50	4,76	5,01
	12	2,68	2,96	3,24	3,50	3,76	4,00	4,21	2,96	3,24	3,52	3,78	4,03	4,27	4,49
	13	2,68	2,96	3,24	3,50	3,76	4,00	4,21	2,96	3,24	3,52	3,78	4,03	4,27	4,49
	14	2,11	2,31	2,51	2,69	2,88	3,05	3,22	2,31	2,51	2,71	2,89	3,08	3,25	3,43
	15	1,76	1,93	2,09	2,25	2,40	2,55	2,69	1,93	2,10	2,26	2,42	2,57	2,72	2,86
	16	1,43	1,57	1,70	1,83	1,95	2,08	2,18	1,56	1,70	1,84	1,97	2,09	2,21	2,32
	17	1,09	1,20	1,30	1,39	1,48	1,57	1,65	1,20	1,31	1,41	1,50	1,59	1,68	1,77
	18	0,76	0,82	0,88	0,95	1,01	1,06	1,12	0,82	0,88	0,95	1,01	1,08	1,13	1,18
	19	0,39	0,42	0,45	0,49	0,52	0,55	0,57	0,42	0,46	0,49	0,52	0,55	0,58	0,61
	20														
	21	0,38	0,42	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,41	0,45	0,48	0,51	0,54	0,57	0,60
	22	0,78	0,84	0,90	0,96	1,02	1,07	1,13	0,84	0,90	0,96	1,02	1,08	1,14	1,19
	23	1,19	1,28	1,38	1,47	1,55	1,64	1,72	1,29	1,39	1,48	1,57	1,65	1,74	1,82
24	1,60	1,72	1,83	1,95	2,06	2,18	2,29	1,73	1,85	1,96	2,08	2,19	2,31	2,42	
25	2,02	2,16	2,31	2,46	2,60	2,74	2,88	2,18	2,32	2,47	2,62	2,76	2,90	3,04	
26	2,44	2,62	2,79	2,96	3,12	3,28	3,43	2,53	2,81	2,97	3,15	3,31	3,47	3,62	
27	2,88	3,08	3,27	3,42	3,66	3,84	4,01	3,10	3,30	3,47	3,69	3,88	4,06	4,23	
28	3,31	3,54	3,78	4,00	4,22	4,44	4,64	3,56	3,79	4,03	4,25	4,47	4,69	4,89	
29	3,78	4,03	4,27	4,52	4,76	4,99	5,21	4,06	4,31	4,55	4,80	5,04	5,27	5,48	
30	4,24	4,51	4,80	5,08	5,36	5,61	5,86	4,54	4,82	5,11	5,39	5,66	5,91	6,16	

TABLE V
Corrections c de température sur la masse volumique des vins secs et des vins secs débarrassés d'alcool
Mesurée à l'aide d'un pycnomètre ou d'un aréomètre en verre ordinaire, à t °C, pour la ramener à 20°C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{matrix} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{matrix}$$

		Titres alcoométriques																										
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27			
Températures en °C	10	1,45	1,51	1,55	1,58	1,64	1,76	1,78	1,89	1,98	2,09	2,21	2,34	2,47	2,60	2,75	2,93	3,06	3,22	3,39	3,57	3,75	3,93	4,12	4,31			
	11	1,35	1,40	1,43	1,47	1,52	1,58	1,65	1,73	1,83	1,93	2,03	2,15	2,26	2,38	2,51	2,65	2,78	2,93	3,08	3,24	3,40	3,57	3,73	3,90			
	12	1,24	1,28	1,31	1,34	1,39	1,44	1,50	1,58	1,66	1,75	1,84	1,94	2,04	2,15	2,26	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,05	3,19	3,34	3,49			
	13	1,12	1,16	1,18	1,21	1,25	1,30	1,35	1,42	1,49	1,56	1,64	1,73	1,82	1,91	2,01	2,11	2,22	2,33	2,45	2,57	2,69	2,81	2,95	3,07			
	14	0,99	1,03	1,05	1,07	1,11	1,14	1,19	1,24	1,31	1,37	1,44	1,52	1,59	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,13	2,23	2,33	2,44	2,55	2,66			
	15	0,86	0,89	0,90	0,92	0,95	0,98	1,02	1,07	1,12	1,17	1,23	1,29	1,35	1,42	1,49	1,56	1,63	1,71	1,80	1,88	1,96	2,05	2,14	2,23			
	16	0,71	0,73	0,74	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,91	0,95	0,99	1,05	1,10	1,15	1,21	1,27	1,33	1,39	1,45	1,52	1,59	1,66	1,73	1,80			
	17	0,55	0,57	0,57	0,59	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,74	0,77	0,81	0,84	0,88	0,92	0,96	1,01	1,05	1,10	1,15	1,20	1,26	1,31	1,36			
	18	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,74	0,78	0,81	0,85	0,88	0,91			
	19	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46			
	20																											
	21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,31	0,32	0,34	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48			
	22	0,43	0,45	0,45	0,46	0,47	0,49	0,50	0,52	0,54	0,56	0,58	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,73	0,77	0,80	0,83	0,86	0,89	0,93	0,96			
	23	0,67	0,69	0,70	0,71	0,72	0,74	0,77	0,79	0,82	0,85	0,88	0,91	0,95	0,99	1,03	1,07	1,12	1,16	1,21	1,25	1,30	1,35	1,40	1,45			
	24	0,91	0,93	0,95	0,97	0,99	1,01	1,04	1,07	1,11	1,15	1,20	1,24	1,29	1,34	1,39	1,45	1,50	1,56	1,62	1,69	1,76	1,82	1,88	1,95			
	25	1,16	1,19	1,21	1,23	1,26	1,29	1,33	1,37	1,42	1,47	1,52	1,57	1,63	1,70	1,76	1,83	1,90	1,97	2,05	2,13	2,21	2,29	2,37	2,45			
	26	1,42	1,46	1,49	1,51	1,54	1,58	1,62	1,67	1,73	1,79	1,85	1,92	1,99	2,07	2,14	2,22	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,77	2,86	2,96			
	27	1,69	1,74	1,77	1,80	1,83	1,88	1,93	1,98	2,05	2,12	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,72	2,82	2,93	3,04	3,14	3,25	3,37	3,48			
	28	1,97	2,03	2,06	2,09	2,14	2,19	2,24	2,31	2,38	2,46	2,55	2,63	2,73	2,83	2,93	3,03	3,14	3,26	3,38	3,50	3,62	3,75	3,85	4,00			
	29	2,26	2,33	2,37	2,41	2,45	2,50	2,57	2,64	2,73	2,82	2,91	2,99	3,11	3,22	3,34	3,46	3,58	3,70	3,84	3,97	4,11	4,25	4,39	4,54			
	30	2,56	2,64	2,67	2,72	2,77	2,83	2,90	2,98	3,08	3,18	3,28	3,38	3,50	3,62	3,75	3,88	4,02	4,16	4,30	4,46	4,61	4,76	4,92	5,07			

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^t en d_{20}^{20}

TABLE VI
Corrections c de température sur la masse volumique des moûts concentrés
mesurée à t° à l'aide d'un pycnomètre ou d'un aréomètre en verre ordinaire, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \begin{matrix} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{matrix}$$

		Masses volumiques																						
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36	
Température en °C	10	2,17	2,34	2,52	2,68	2,85	2,99	3,16	3,29	3,44	3,58	3,73	3,86	4,13	4,36	4,60	4,82	5,02	5,25	5,39	5,56	-5,73	5,87	
	11	2,00	2,16	2,29	2,44	2,59	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,37	3,48	3,71	3,94	4,15	4,33	4,52	4,69	4,85	5,01	5,15	5,15	5,29
	12	1,81	1,95	2,08	2,21	2,34	2,47	2,58	2,70	2,82	2,92	3,03	3,14	3,35	3,55	3,72	3,90	4,07	4,23	4,37	4,52	4,64	4,64	4,77
	13	1,62	1,74	1,85	1,96	2,07	2,17	2,28	2,38	2,48	2,59	2,68	2,77	2,94	3,11	3,28	3,44	3,54	3,72	3,86	3,99	4,12	4,24	4,24
	14	1,44	1,54	1,64	1,73	1,82	1,92	2,00	2,08	2,17	2,25	2,34	2,42	2,57	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,35	3,46	3,57	3,65	3,65
	15	1,21	1,29	1,37	1,45	1,53	1,60	1,68	1,75	1,82	1,89	1,97	2,03	2,16	2,28	2,40	2,51	2,61	2,71	2,80	2,89	2,94	3,01	3,01
	16	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,65	1,75	1,84	1,94	2,02	2,09	2,17	2,23	2,30	2,36	2,42	2,42
	17	0,76	0,82	0,86	0,91	0,96	1,00	1,05	1,09	1,14	1,18	1,22	1,25	1,32	1,39	1,46	1,52	1,57	1,63	1,67	1,71	1,75	1,79	1,79
	18	0,53	0,56	0,59	0,63	0,65	0,69	0,72	0,74	0,77	0,80	0,82	0,85	0,90	0,95	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,16	1,18	1,20	1,20
	19	0,28	0,30	0,31	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,42	0,43	0,43	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,55	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60
	20																							
	21	0,28	0,29	0,31	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,51	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	0,60
	22	0,55	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,93	0,97	1,02	1,06	1,09	1,12	1,15	1,17	1,19	1,19	1,19
	23	0,85	0,90	0,95	0,99	1,04	1,08	1,12	1,16	1,21	1,25	1,29	1,32	1,39	1,46	1,52	1,58	1,62	1,68	1,72	1,75	1,77	1,79	1,79
	24	1,15	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,48	1,54	1,60	1,65	1,71	1,76	1,86	1,95	2,04	2,11	2,17	2,23	2,29	2,33	2,35	2,37	2,37
	25	1,44	1,52	1,59	1,67	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,22	2,34	2,45	2,55	2,64	2,74	2,81	2,87	2,90	2,92	2,96	2,96
	26	1,76	1,84	1,93	2,02	2,10	2,18	2,25	2,33	2,41	2,49	2,56	2,64	2,78	2,91	3,03	3,15	3,26	3,37	3,47	3,55	3,62	3,60	3,60
	27	2,07	2,16	2,26	2,36	2,46	2,56	2,65	2,74	2,83	2,91	3,00	3,07	3,24	3,39	3,55	3,69	3,82	3,94	4,04	4,14	4,23	4,30	4,30
	28	2,39	2,51	2,63	2,74	2,85	2,96	3,06	3,16	3,28	3,38	3,48	3,57	3,75	3,92	4,08	4,23	4,37	4,51	4,62	4,73	4,80	4,86	4,86
	29	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22	3,34	3,46	3,57	3,69	3,90	3,90	4,00	4,20	4,39	4,58	4,74	4,90	5,05	5,19	5,31	5,40	5,48	5,48
	30	3,06	3,21	3,35	3,50	3,63	3,77	3,91	4,02	4,15	4,28	4,40	4,52	4,75	4,96	5,16	5,35	5,52	5,67	5,79	5,91	5,99	6,04	6,04

Note : n peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^t en d_{20}^{20}

TABLE VII
 Corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à t° à l'aide d'un aréomètre ou d'un pycnomètre en *verre ordinaire*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{ si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

Température en °C	Vins de 13% volume								Vins de 15% volume								Vins de 17% volume							
	Masses volumiques								Masses volumiques								Masses volumiques							
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120		1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	
10	2,24	2,58	2,93	3,27	3,59	3,89	4,18	2,51	2,85	3,20	3,54	3,85	4,02	4,46	2,81	3,15	3,50	3,84	4,15	4,45	4,74			
11	2,06	2,37	2,69	2,97	3,26	3,53	3,78	2,31	2,61	2,93	3,21	3,51	3,64	4,02	2,57	2,89	3,20	3,49	3,77	4,03	4,28			
12	1,87	2,14	2,42	2,67	2,94	3,17	3,40	2,09	2,36	2,64	2,90	3,16	3,27	3,61	2,32	2,60	2,87	3,13	3,39	3,63	3,84			
13	1,69	1,93	2,14	2,37	2,59	2,80	3,00	1,88	2,12	2,34	2,56	2,78	2,88	3,19	2,09	2,33	2,55	2,77	2,98	3,19	3,39			
14	1,49	1,70	1,90	2,09	2,27	2,44	2,61	1,67	1,86	2,06	2,25	2,45	2,51	2,77	1,83	2,03	2,23	2,42	2,61	2,77	2,94			
15	1,25	1,42	1,59	1,75	1,90	2,05	2,19	1,39	1,56	1,72	1,88	2,03	2,11	2,32	1,54	1,71	1,87	2,03	2,18	2,32	2,47			
16	1,03	1,17	1,30	1,43	1,55	1,67	1,78	1,06	1,27	1,40	1,53	1,65	1,77	1,88	1,25	1,39	1,52	1,65	1,77	1,89	2,00			
17	0,80	0,90	1,00	1,09	1,17	1,27	1,36	0,87	0,98	1,08	1,17	1,26	1,35	1,44	0,96	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,52			
18	0,54	0,61	0,68	0,75	0,81	0,86	0,92	0,60	0,66	0,73	0,80	0,85	0,91	0,97	0,66	0,72	0,79	0,86	0,92	0,97	1,03			
19	0,29	0,33	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,32	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,35	0,38	0,41	0,45	0,48	0,51	0,53			
20																								
21	0,29	0,32	0,35	0,39	0,42	0,45	0,47	0,32	0,35	0,38	0,42	0,45	0,48	0,50	0,34	0,38	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53			
22	0,57	0,64	0,70	0,76	0,82	0,88	0,93	0,63	0,69	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	0,68	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04			
23	0,89	0,98	1,08	1,17	1,26	1,34	1,43	0,97	1,06	1,16	1,25	1,34	1,42	1,51	1,06	1,15	1,25	1,34	1,42	1,51	1,59			
24	1,22	1,34	1,44	1,56	1,68	1,79	1,90	1,32	1,44	1,54	1,66	1,78	1,89	2,00	1,43	1,56	1,65	1,77	1,89	2,00	2,11			
25	1,61	1,68	1,83	1,98	2,12	2,26	2,40	1,66	1,81	1,96	2,11	2,25	2,39	2,52	1,80	1,94	2,09	2,24	2,39	2,52	2,66			
26	1,87	2,05	2,22	2,40	2,56	2,71	2,87	2,02	2,20	2,37	2,54	2,70	2,85	3,01	2,18	2,36	2,53	2,71	2,86	3,02	3,17			
27	2,21	2,42	2,60	2,80	3,00	3,18	3,35	2,39	2,59	2,78	2,98	3,17	3,35	3,52	2,58	2,78	2,97	3,17	3,36	3,54	3,71			
28	2,56	2,80	3,02	3,25	3,47	3,67	3,89	2,75	2,89	3,22	3,44	3,66	3,96	4,07	2,97	3,21	3,44	3,66	3,88	4,09	4,30			
29	2,93	3,19	3,43	3,66	3,91	4,14	4,37	3,16	3,41	3,65	3,89	4,13	4,36	4,59	3,40	3,66	3,89	4,13	4,38	4,61	4,82			
30	3,31	3,57	3,86	4,15	4,41	4,66	4,92	3,55	3,81	4,10	4,38	4,66	4,90	5,16	3,82	4,08	4,37	4,65	4,93	5,17	5,42			

TABLE VII (suite)
 Corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à t° à l'aide d'un aréomètre ou d'un pycnomètre en *verre ordinaire*, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{ si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

Températures en °C	Vins de 19% volume							Vins de 21% volume						
	Masses volumiques							Masses volumiques						
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
10	3,14	3,48	3,83	4,17	4,48	4,78	5,07	3,50	3,84	4,19	4,52	4,83	5,12	5,41
11	2,87	3,18	3,49	3,78	4,06	4,32	4,57	3,18	3,49	3,80	4,09	4,34	4,63	4,88
12	2,58	2,96	3,13	3,39	3,65	3,88	4,10	2,86	3,13	3,41	3,67	3,92	4,15	4,37
13	2,31	2,55	2,77	2,99	3,20	3,41	3,61	2,56	2,79	3,01	3,23	3,44	3,65	3,85
14	2,03	2,23	2,43	2,61	2,80	2,96	3,13	2,23	2,43	2,63	2,81	3,00	3,16	3,33
15	1,69	1,86	2,02	2,18	2,33	2,48	2,62	1,86	2,03	2,19	2,35	2,50	2,65	2,80
16	1,38	1,52	1,65	1,78	1,90	2,02	2,13	1,51	1,65	1,78	1,91	2,03	2,15	2,26
17	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,53	1,62	1,15	1,25	1,35	1,45	1,54	1,63	1,71
18	0,73	0,79	0,85	0,92	0,98	1,03	1,09	0,79	0,85	0,92	0,98	1,05	1,10	1,15
19	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,52	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
20														
21	0,37	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
22	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04	1,10	0,81	0,88	0,94	1,00	1,06	1,10	1,17
23	1,15	1,30	1,34	1,43	1,51	1,60	1,68	1,25	1,34	1,44	1,63	1,61	1,70	1,78
24	1,55	1,67	1,77	1,89	2,00	2,11	2,23	1,68	1,80	1,90	2,02	2,13	2,25	2,36
25	1,95	2,09	2,24	2,39	2,53	2,67	2,71	2,11	2,25	2,40	2,55	2,69	2,83	2,97
26	2,36	2,54	2,71	2,89	3,04	3,20	3,35	2,55	2,73	2,90	3,07	3,22	3,38	3,54
27	2,79	2,99	3,18	3,38	3,57	3,75	3,92	3,01	3,20	3,40	3,59	3,78	3,96	4,13
28	3,20	3,44	3,66	3,89	4,11	4,32	4,53	3,46	3,69	3,93	4,15	4,36	4,58	4,77
29	3,66	3,92	4,15	4,40	4,64	4,87	5,08	3,95	4,20	4,43	4,68	4,92	5,15	5,36
30	4,11	4,37	4,66	4,94	5,22	5,46	5,71	4,42	4,68	4,97	5,25	5,53	5,77	6,02

Masse volumique et densité relative à 20 °C

1. Définition

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de vin ou de moût à 20 °C par ce volume. Elle s'exprime en grammes par millilitre et son symbole est $\rho_{20\text{ °C}}$.

La densité relative à 20 °C ou densité 20 °C/20 °C est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique du vin ou de moût à 20 °C à la masse volumique de l'eau à la même température. Son symbole est : $d_{20\text{ °C}}^{20\text{ °C}}$

2. Principe des méthodes

La masse volumique et la densité relative à 20 °C sont déterminées sur l'échantillon pour essai :

- par aréométrie ou densimétrie par la balance hydrostatique : méthodes usuelles.

Remarque : Pour les déterminations très précises, la masse volumique doit être corrigée de l'action du dioxyde de soufre.

$$\begin{aligned}\rho_{20} &= \rho'_{20} - 0.0006 \times S \\ \rho_{20} &= \text{masse volumique corrigée} \\ \rho'_{20} &= \text{masse volumique observée} \\ S &= \text{dioxyde de soufre total en g/l}\end{aligned}$$

3. Traitement préalable de l'échantillon

Si le vin ou le moût contient des quantités notables de dioxyde de carbone, en chasser la plus grande quantité par agitation de 250 ml de vin dans un flacon de 1000 ml, ou par filtration sous pression réduite sur 2 g de coton placé dans une allonge.

4. Méthode

4.1. Aréométrie

4.1.1. Appareillage

4.1.1.1. Aréomètre

Les aréomètres doivent répondre aux prescriptions de l'ISO en ce qui concerne leurs dimensions et leurs graduations.

Ils doivent avoir une carène cylindrique, une tige de section circulaire de 3 mm de diamètre au moins. Pour les vins secs, ils doivent être gradués de 0,983 à 1,003 par millième et cinquième de millième. Chaque millième doit être séparé par 5 mm au moins du millième suivant. Pour la mesure de la densité des vins désalcoolisés, des vins doux et des moûts, il sera fait usage d'un jeu de cinq aréomètres gradués de 1,000 1,030 ; 1,030 1,060 ; 1,060 1,090 ; 1,090 1,120 ; 1,120 1,150. Ces appareils seront gradués en masses volumiques à 20 °C par millième et demi-millième au moins, chaque millième étant séparé par 3 mm au moins du millième suivant.

Ces aréomètres doivent être gradués de manière à être lus au «sommet du ménisque». L'indication de la graduation en masse volumique à 20 °C ou en densité relative à 20 °C et de la lecture au niveau du sommet du ménisque sera portée soit sur l'échelle graduée, soit sur une bande de papier incluse dans la carène.

Ces appareils doivent être contrôlés par un service officiel.

4.1.1.2. Thermomètre contrôlé gradué par demi degré Celsius au moins.

4.1.1.3. Éprouvette cylindrique de 36 mm de diamètre intérieur et de 320 mm de hauteur, tenue verticalement grâce à un support à vis calantes.

4.1.2. *Technique d'une mesure*

Dans l'éprouvette 4.1.1.3, placer 250 ml d'échantillon préparé pour essais (3), introduire l'aréomètre et le thermomètre. Lire le thermomètre une minute après avoir agité pour réaliser l'équilibre de température. Retirer le thermomètre et lire la masse volumique apparente à t °C sur la tige de l'aréomètre après une minute de repos.

Corriger la masse volumique apparente lue à t °C de l'action de la température à l'aide de tables qui s'appliquent aux cas des vins secs (table V), des moûts (table VI) et des vins contenant du sucre (table VII).

La densité 20 °C/20 °C est obtenue en divisant la masse volumique à 20 °C par 0,998203.

TABLE V
Corrections *c* de température sur la masse volumique des vins secs et des vins secs débarrassés d'alcool
Mesurée à l'aide d'un pycnomètre ou d'un aréomètre en verre ordinaire, à *t* °C, pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_r \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Titres alcoométriques																										
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27			
Températures en °C	10	1,45	1,51	1,55	1,58	1,64	1,76	1,78	1,89	1,98	2,09	2,21	2,34	2,47	2,60	2,75	2,93	3,06	3,22	3,39	3,57	3,75	3,93	4,12	4,31			
	11	1,35	1,40	1,43	1,47	1,52	1,58	1,65	1,73	1,83	1,93	2,03	2,15	2,26	2,38	2,51	2,65	2,78	2,93	3,08	3,24	3,40	3,57	3,73	3,90			
	12	1,24	1,28	1,31	1,34	1,39	1,44	1,50	1,58	1,66	1,75	1,84	1,94	2,04	2,15	2,26	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,05	3,19	3,34	3,49			
	13	1,12	1,16	1,18	1,21	1,25	1,30	1,35	1,42	1,49	1,56	1,64	1,73	1,82	1,91	2,01	2,11	2,22	2,33	2,45	2,57	2,69	2,81	2,95	3,07			
	14	0,99	1,03	1,05	1,07	1,11	1,14	1,19	1,24	1,31	1,37	1,44	1,52	1,59	1,67	1,75	1,84	1,93	2,03	2,13	2,23	2,33	2,44	2,55	2,66			
	15	0,86	0,89	0,90	0,92	0,95	0,98	1,02	1,07	1,12	1,17	1,23	1,29	1,35	1,42	1,49	1,56	1,63	1,71	1,80	1,88	1,96	2,05	2,14	2,23			
	16	0,71	0,73	0,74	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,91	0,95	0,99	1,05	1,10	1,15	1,21	1,27	1,33	1,39	1,45	1,52	1,59	1,66	1,73	1,80			
	17	0,55	0,57	0,57	0,59	0,60	0,62	0,65	0,67	0,70	0,74	0,77	0,81	0,84	0,88	0,92	0,96	1,01	1,05	1,10	1,15	1,20	1,26	1,31	1,36			
	18	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,55	0,57	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,74	0,78	0,81	0,85	0,88	0,91			
	19	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46			
	20																											
	21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,31	0,32	0,34	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48			
	22	0,43	0,45	0,45	0,46	0,47	0,49	0,50	0,52	0,54	0,56	0,58	0,60	0,62	0,65	0,68	0,71	0,73	0,77	0,80	0,83	0,86	0,89	0,93	0,96			
	23	0,67	0,69	0,70	0,71	0,72	0,74	0,77	0,79	0,82	0,85	0,88	0,91	0,95	0,99	1,03	1,07	1,12	1,16	1,21	1,25	1,30	1,35	1,40	1,45			
	24	0,91	0,93	0,95	0,97	0,99	1,01	1,04	1,07	1,11	1,15	1,20	1,24	1,29	1,34	1,39	1,45	1,50	1,56	1,62	1,69	1,76	1,82	1,88	1,95			
	25	1,16	1,19	1,21	1,23	1,26	1,29	1,33	1,37	1,42	1,47	1,52	1,57	1,63	1,70	1,76	1,83	1,90	1,97	2,05	2,13	2,21	2,29	2,37	2,45			
	26	1,42	1,46	1,49	1,51	1,54	1,58	1,62	1,67	1,73	1,79	1,85	1,92	1,99	2,07	2,14	2,22	2,31	2,40	2,49	2,58	2,67	2,77	2,86	2,96			
	27	1,69	1,74	1,77	1,80	1,83	1,88	1,93	1,98	2,05	2,12	2,20	2,27	2,35	2,44	2,53	2,63	2,72	2,82	2,93	3,04	3,14	3,25	3,37	3,48			
	28	1,97	2,03	2,06	2,09	2,14	2,19	2,24	2,31	2,38	2,46	2,55	2,63	2,73	2,83	2,93	3,03	3,14	3,26	3,38	3,50	3,62	3,75	3,85	4,00			
	29	2,26	2,33	2,37	2,41	2,45	2,50	2,57	2,64	2,73	2,82	2,91	2,99	3,11	3,22	3,34	3,46	3,58	3,70	3,84	3,97	4,11	4,25	4,39	4,54			
	30	2,56	2,64	2,67	2,72	2,77	2,83	2,90	2,98	3,08	3,18	3,28	3,38	3,50	3,62	3,75	3,88	4,02	4,16	4,30	4,46	4,61	4,76	4,92	5,07			

Note : On peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^1 en d_{20}^{20}

TABLE VI
Corrections *c* de température sur la masse volumique des moûts concentrés
mesurée à *t* °C à l'aide d'un pycnomètre ou d'un aréomètre en verre ordinaire, à *t* °C, pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_r \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{array}$$

		Masses volumiques																						
		1,05	1,06	1,07	1,08	1,09	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26	1,28	1,30	1,32	1,34	1,36	
Température en °C	10	2,17	2,34	2,52	2,68	2,85	2,99	3,16	3,29	3,44	3,58	3,73	3,86	4,13	4,36	4,60	4,82	5,02	5,25	5,39	5,56	5,73	5,87	
	11	2,00	2,16	2,29	2,44	2,59	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,37	3,48	3,71	3,94	4,15	4,33	4,52	4,69	4,85	5,01	5,15	5,29	
	12	1,81	1,95	2,08	2,21	2,34	2,47	2,58	2,70	2,82	2,92	3,03	3,14	3,35	3,55	3,72	3,90	4,07	4,23	4,37	4,52	4,64	4,77	
	13	1,62	1,74	1,85	1,96	2,07	2,17	2,28	2,38	2,48	2,59	2,68	2,77	2,94	3,11	3,28	3,44	3,54	3,72	3,86	3,99	4,12	4,24	
	14	1,44	1,54	1,64	1,73	1,82	1,92	2,00	2,08	2,17	2,25	2,34	2,42	2,57	2,73	2,86	2,99	3,12	3,24	3,35	3,46	3,57	3,65	
	15	1,21	1,29	1,37	1,45	1,53	1,60	1,68	1,75	1,82	1,89	1,97	2,03	2,16	2,28	2,40	2,51	2,61	2,71	2,80	2,89	2,94	3,01	
	16	1,00	1,06	1,12	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,49	1,54	1,60	1,65	1,75	1,84	1,94	2,02	2,09	2,17	2,23	2,30	2,36	2,42	
	17	0,76	0,82	0,86	0,91	0,96	1,00	1,05	1,09	1,14	1,18	1,22	1,25	1,32	1,39	1,46	1,52	1,57	1,63	1,67	1,71	1,75	1,79	
	18	0,53	0,56	0,59	0,63	0,65	0,69	0,72	0,74	0,77	0,80	0,82	0,85	0,90	0,95	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,16	1,18	1,20	
	19	0,28	0,30	0,31	0,33	0,35	0,36	0,38	0,39	0,41	0,42	0,43	0,43	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,55	0,57	0,58	0,59	0,60	
	20																							
	21	0,28	0,29	0,31	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48	0,51	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	
	22	0,55	0,58	0,61	0,64	0,67	0,70	0,73	0,76	0,78	0,81	0,84	0,87	0,93	0,97	1,02	1,06	1,09	1,12	1,15	1,17	1,19	1,19	
	23	0,85	0,90	0,95	0,99	1,04	1,08	1,12	1,16	1,21	1,25	1,29	1,32	1,39	1,46	1,52	1,58	1,62	1,68	1,72	1,75	1,77	1,79	
	24	1,15	1,19	1,25	1,31	1,37	1,43	1,48	1,54	1,60	1,65	1,71	1,76	1,86	1,95	2,04	2,11	2,17	2,23	2,29	2,33	2,35	2,37	
	25	1,44	1,52	1,59	1,67	1,74	1,81	1,88	1,95	2,02	2,09	2,16	2,22	2,34	2,45	2,55	2,64	2,74	2,81	7,87	2,90	2,92	2,96	
	26	1,76	1,84	1,93	2,02	2,10	2,18	2,25	2,33	2,41	2,49	2,56	2,64	2,78	2,91	3,03	3,15	3,26	3,37	3,47	3,55	3,62	3,60	
	27	2,07	2,16	2,26	2,36	2,46	2,56	2,65	2,74	2,83	2,91	3,00	3,07	3,24	3,39	3,55	3,69	3,82	3,94	4,04	4,14	4,23	4,30	
	28	2,39	2,51	2,63	2,74	2,85	2,96	3,06	3,16	3,28	3,38	3,48	3,57	3,75	3,92	4,08	4,23	4,37	4,51	4,62	4,73	4,80	4,86	
	29	2,74	2,86	2,97	3,09	3,22	3,34	3,46	3,57	3,69	3,80	3,90	4,00	4,20	4,39	4,58	4,74	4,90	5,05	5,19	5,31	5,40	5,48	
	30	3,06	3,21	3,35	3,50	3,63	3,77	3,91	4,02	4,15	4,28	4,40	4,52	4,75	4,96	5,16	5,35	5,52	5,67	5,79	5,91	5,99	6,04	

Note : n peut utiliser cette table pour transformer la densité d_{20}^1 en d_{20}^{20}

TABLE VII
 Corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à t° à l'aide d'un aréomètre ou d'un pycnomètre en verre ordinaire, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_r \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{ si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{matrix}$$

Température en °C	Vins de 13% volume							Vins de 15% volume							Vins de 17% volume						
	Masses volumiques							Masses volumiques							Masses volumiques						
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
10	2,24	2,58	2,93	3,27	3,59	3,89	4,18	2,51	2,85	3,20	3,54	3,85	4,02	4,46	2,81	3,15	3,50	3,84	4,15	4,45	4,74
11	2,06	2,37	2,69	2,97	3,26	3,53	3,78	2,31	2,61	2,93	3,21	3,51	3,64	4,02	2,57	2,89	3,20	3,49	3,77	4,03	4,28
12	1,87	2,14	2,42	2,67	2,94	3,17	3,40	2,09	2,36	2,64	2,90	3,16	3,27	3,61	2,32	2,60	2,87	3,13	3,39	3,63	3,84
13	1,69	1,93	2,14	2,37	2,59	2,80	3,00	1,88	2,12	2,34	2,56	2,78	2,88	3,19	2,09	2,33	2,55	2,77	2,98	3,19	3,39
14	1,49	1,70	1,90	2,09	2,27	2,44	2,61	1,67	1,86	2,06	2,25	2,45	2,51	2,77	1,83	2,03	2,23	2,42	2,61	2,77	2,94
15	1,25	1,42	1,59	1,75	1,90	2,05	2,19	1,39	1,56	1,72	1,88	2,03	2,11	2,32	1,54	1,71	1,87	2,03	2,18	2,32	2,47
16	1,03	1,17	1,30	1,43	1,55	1,67	1,78	1,06	1,27	1,40	1,53	1,65	1,77	1,88	1,25	1,39	1,52	1,65	1,77	1,89	2,00
17	0,80	0,90	1,00	1,09	1,17	1,27	1,36	0,87	0,98	1,08	1,17	1,26	1,35	1,44	0,96	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,52
18	0,54	0,61	0,68	0,75	0,81	0,86	0,92	0,60	0,66	0,73	0,80	0,85	0,91	0,97	0,66	0,72	0,79	0,86	0,92	0,97	1,03
19	0,29	0,33	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,32	0,36	0,39	0,42	0,45	0,48	0,51	0,35	0,38	0,41	0,45	0,48	0,51	0,53
20																					
21	0,29	0,32	0,35	0,39	0,42	0,45	0,47	0,32	0,35	0,38	0,42	0,45	0,48	0,50	0,34	0,38	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53
22	0,57	0,64	0,70	0,76	0,82	0,88	0,93	0,63	0,69	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	0,68	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04
23	0,89	0,98	1,08	1,17	1,26	1,34	1,43	0,97	1,06	1,16	1,25	1,34	1,42	1,51	1,06	1,15	1,25	1,34	1,42	1,51	1,59
24	1,22	1,34	1,44	1,56	1,68	1,79	1,90	1,32	1,44	1,54	1,66	1,78	1,89	2,00	1,43	1,56	1,65	1,77	1,89	2,00	2,11
25	1,61	1,68	1,83	1,98	2,12	2,26	2,40	1,66	1,81	1,96	2,11	2,25	2,39	2,52	1,80	1,94	2,09	2,24	2,39	2,52	2,66
26	1,87	2,05	2,22	2,40	2,56	2,71	2,87	2,02	2,20	2,37	2,54	2,70	2,85	3,01	2,18	2,36	2,53	2,71	2,86	3,02	3,17
27	2,21	2,42	2,60	2,80	3,00	3,18	3,35	2,39	2,59	2,78	2,98	3,17	3,35	3,52	2,58	2,78	2,97	3,17	3,36	3,54	3,71
28	2,56	2,80	3,02	3,25	3,47	3,67	3,89	2,75	2,89	3,22	3,44	3,66	3,96	4,07	2,97	3,21	3,44	3,66	3,88	4,09	4,30
29	2,93	3,19	3,43	3,66	3,91	4,14	4,37	3,16	3,41	3,65	3,89	4,13	4,36	4,59	3,40	3,66	3,89	4,13	4,38	4,61	4,82
30	3,31	3,57	3,86	4,15	4,41	4,66	4,92	3,55	3,81	4,10	4,38	4,66	4,90	5,16	3,82	4,08	4,37	4,65	4,93	5,17	5,42

TABLE VII (suite)
 Corrections c de température sur la masse volumique des vins de liqueur
 mesurée à t° à l'aide d'un aréomètre ou d'un pycnomètre en verre ordinaire, à t° pour la ramener à 20 °C,

$$\rho_{20} = \rho_r \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{matrix} - \text{ si } t^\circ \text{ est inférieur à } 20^\circ\text{C} \\ + \text{ si } t^\circ \text{ est supérieur à } 20^\circ\text{C} \end{matrix}$$

Températures en °C	Vins de 19% volume							Vins de 21% volume						
	Masses volumiques							Masses volumiques						
	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120	1,000	1,020	1,040	1,060	1,080	1,100	1,120
10	3,14	3,48	3,83	4,17	4,48	4,78	5,07	3,50	3,84	4,19	4,52	4,83	5,12	5,41
11	2,87	3,18	3,49	3,78	4,06	4,32	4,57	3,18	3,49	3,80	4,09	4,34	4,63	4,88
12	2,58	2,96	3,13	3,39	3,65	3,88	4,10	2,86	3,13	3,41	3,67	3,92	4,15	4,37
13	2,31	2,55	2,77	2,99	3,20	3,41	3,61	2,56	2,79	3,01	3,23	3,44	3,65	3,85
14	2,03	2,23	2,43	2,61	2,80	2,96	3,13	2,23	2,43	2,63	2,81	3,00	3,16	3,33
15	1,69	1,86	2,02	2,18	2,33	2,48	2,62	1,86	2,03	2,19	2,35	2,50	2,65	2,80
16	1,38	1,52	1,65	1,78	1,90	2,02	2,13	1,51	1,65	1,78	1,91	2,03	2,15	2,26
17	1,06	1,16	1,26	1,35	1,44	1,53	1,62	1,15	1,25	1,35	1,45	1,54	1,63	1,71
18	0,73	0,79	0,85	0,92	0,98	1,03	1,09	0,79	0,85	0,92	0,98	1,05	1,10	1,15
19	0,38	0,41	0,44	0,48	0,51	0,52	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
20														
21	0,37	0,41	0,44	0,47	0,50	0,53	0,56	0,41	0,44	0,47	0,51	0,54	0,57	0,59
22	0,75	0,81	0,87	0,93	0,99	1,04	1,10	0,81	0,88	0,94	1,00	1,06	1,10	1,17
23	1,15	1,30	1,34	1,43	1,51	1,60	1,68	1,25	1,34	1,44	1,63	1,61	1,70	1,78
24	1,55	1,67	1,77	1,89	2,00	2,11	2,23	1,68	1,80	1,90	2,02	2,13	2,25	2,36
25	1,95	2,09	2,24	2,39	2,53	2,67	2,71	2,11	2,25	2,40	2,55	2,69	2,83	2,97
26	2,36	2,54	2,71	2,89	3,04	3,20	3,35	2,55	2,73	2,90	3,07	3,22	3,38	3,54
27	2,79	2,99	3,18	3,38	3,57	3,75	3,92	3,01	3,20	3,40	3,59	3,78	3,96	4,13
28	3,20	3,44	3,66	3,89	4,11	4,32	4,53	3,46	3,69	3,93	4,15	4,36	4,58	4,77
29	3,66	3,92	4,15	4,40	4,64	4,87	5,08	3,95	4,20	4,43	4,68	4,92	5,15	5,36
30	4,11	4,37	4,66	4,94	5,22	5,46	5,71	4,42	4,68	4,97	5,25	5,53	5,77	6,02

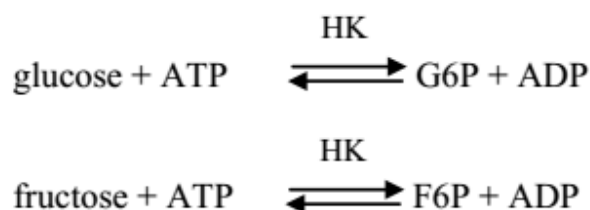
Glucose et fructose

1. Définition

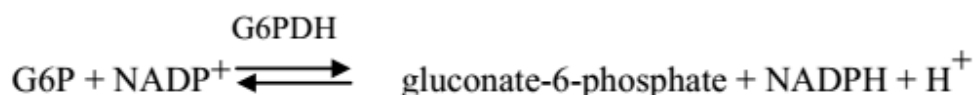
Le glucose et le fructose peuvent être dosés individuellement par une méthode enzymatique, en vue seulement du calcul du rapport glucose/fructose.

2. Principe

Le glucose et le fructose sont phosphorylés par l'adénosine triphosphate (ATP) au cours d'une réaction enzymatique catalysée par l'hexokinase (HK), et donnent du glucose-6-phosphate (G6P) et du fructose-6-phosphate (F6P) :

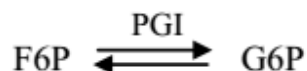


dans un premier temps le glucose-6-phosphate est oxydé en gluconate-6-phosphate par le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en présence de l'enzyme glucose-6-phosphate-déhydrogénase (G6PDH). La quantité de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduite (NADPH) qui prend naissance correspond à la quantité de glucose-6-phosphate et donc à celle de glucose.



C'est la nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit qui est dosé d'après son absorption à 340 nm.

Lorsque cette réaction est terminée, le fructose-6-phosphate est transformé sous l'action de la phosphoglucose-isomérase (PGI) en glucose-6-phosphate :



Le glucose-6-phosphate réagit à nouveau avec le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate pour donner du gluconate-6-phosphate et du nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit ; celui-ci sera dosé.

3. Appareillage

- Spectrophotomètre permettant d'effectuer la mesure à 340 nm, maximum d'absorption du NADPH. S'agissant de mesures absolues (pas de gamme d'étalonnage, mais référence au coefficient d'extinction du NADPH), les

échelles des longueurs d'onde et des absorbances de l'appareil doivent être contrôlées.

A défaut, utiliser un photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm.

- Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.
- Pipettes pour test enzymatique de 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 ml

4. Réactifs

Solution 1 : tampon (triéthanolamine 0,3 M, pH 7,6, Mg^{2+} $4 \cdot 10^{-3} M$): 11,2 g de chlorhydrate de triéthanolamine (C_2H_5HCl) et 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ sont dissous dans 150 ml d'eau bidistillée; ajouter environ 4 ml de solution 5M d'hydroxyde de sodium pour obtenir un pH égal à 7,6 et porter à 200 ml.

Cette solution tampon se conserve 4 semaines à +4°C.

Solution 2 : solution de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (environ $11,5 \cdot 10^{-3} M$) : 50 mg de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate disodique sont dissous dans 5 ml d'eau bidistillée.

Cette solution se conserve 4 semaines à +4°C.

Solution 3 : solution d'adénosine-5'-triphosphate disodique et 250 mg d'hydrogencarbonate de sodium sont dissous dans 5 ml d'eau bidistillée.

Cette solution se conserve 4 semaines à +4°C.

Solution 4 : hexokinase/glucose-6-phosphate-déshydrogénase: mélanger 0,5 ml d'hexokinase (2 mg de protéine/ml soit 280 U/ml) et 0,5 ml de glucose-6-phosphate-déshydrogénase (1 mg de protéine/ml).

Le mélange se conserve un an à +4°C.

Solution 5 : phosphoglucose-isomérase (2 mg de protéine/ml, soit 700 U/ml). La suspension est utilisée sans dilution.

Cette solution se conserve un an à +4°C.

Remarque: L'ensemble des réactifs nécessaires pour ce dosage est commercialisé.

5. Mode opératoire

5.1. Préparation de l'échantillon

En fonction de la quantité estimée de glucose + fructose par litre (g/l) effectuer les dilutions suivantes :

Mesure à 340 et 344 nm (g/l)	Mesure à 365 nm (g/l)	Dilution avec l'eau	Facteur F de dilution
Jusqu'à 0,4	0,8	-	-
4,0	8,0	1 + 9	10
10,0	20,0	1 + 24	25
20,0	40,0	1 + 49	50
40,0	80,0	1 + 99	100
au-dessus de 40,0	80,0	1 + 999	1000

5.2. Dosage

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, effectuer les mesures par rapport à l'air (pas de cuve dans le trajet optique) ou par rapport à l'eau.

Température 20 à 25°C.

Dans 2 cuves de 1 cm de trajet optique, introduire :

	<u>Témoin</u>	<u>Dosage</u>
Solution 1 (ramenée à 20°C)	2,50 ml	2,50 ml
Solution 2	0,10 ml	0,10 ml
Solution 3	0,10 ml	0,10 ml
Echantillon à doser		0,20 ml
Eau bidistillée	0,20 ml	

Mélanger et après environ 3 minutes, lire l'absorbance des solutions (A_1). déclencher la réaction en ajoutant :

Solution 4	0,02 ml	0,02 ml
------------------	---------	---------

Mélanger; attendre 1(minutes; effectuer la mesure de l'absorbance et vérifier l'arrêt de la réaction après 2 min. (A_2).

Ajouter immédiatement :

Solution 5	0,02 ml	0,02 ml
------------------	---------	---------

Mélanger; effectuer la lecture au bout de 10 min ; vérifier l'arrête de la réaction après 2 min. (A_3).

Déterminer les différences d'absorbance :

$A_2 - A_1$ correspondant au glucose,

$A_3 - A_2$ correspondant au fructose,

Pour le témoin et pour le dosage.

Déduire la différence d'absorbance du témoin (ΔA_T) de celle du dosage (ΔA_D) et établir :

$$\text{pour le glucose: } \Delta A_G = \Delta A_D - \Delta A_T$$

$$\text{pour le fructose: } \Delta A_F = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Remarque: Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot.

5.3. Expression des résultats

5.3.1 Calcul

La formule générale pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$C = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \Delta A \text{ (g/l)}$$

V = volume du test (ml)

v = volume de l'échantillon (ml)

PM = masse moléculaire de la substance à doser

d = trajet optique de la cuve (cm)

ϵ = coefficient d'absorption du NADPH à 340 nm = 6,3
(mmole⁻¹ x l x cm⁻¹)

V = 2,92 ml pour le dosage du glucose

V = 2,94 ml pour le dosage du fructose

v = 0,20 ml

PM = 180

d = 1

On obtient :

$$\text{Pour le glucose : } C(\text{g/l}) = 0,417 \times \Delta A_G$$

$$\text{Pour le fructose : } C(\text{g/l}) = 0,420 \times \Delta A_F$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur F.

Remarque: si les mesures ont été faites aux longueurs d'onde 334 ou 365 nm, on obtient :

- mesure à 334 nm : $\epsilon = 6,2$ (mmole⁻¹ x l x cm⁻¹)
pour le glucose : $C(\text{g/l}) = 0,425 \times \Delta A_G$
pour le fructose : $C(\text{g/l}) = 0,428 \times \Delta A_F$
- mesure à 365 nm : $\epsilon = 3,4$ (mmole⁻¹ x l x cm⁻¹)
pour le glucose : $C(\text{g/l}) = 0,773 \times \Delta A_G$

pour le fructose : $C(\text{g/l}) = 0,778 \times \Delta A_F$

5.3.2 *Répétabilité (r)*:

$$r = 0,056 x_i$$

x_i = concentration en g/l de l'échantillon.

5.3.3 *Reproductibilité (R)*:

$$R = 0,12 + 0,076 x_i$$

x_i = concentration en g/l de l'échantillon.

Annexe 7. La méthode OIV-Ma-AS313-11

Méthode OIV-MA-AS313-11

Méthode Type II

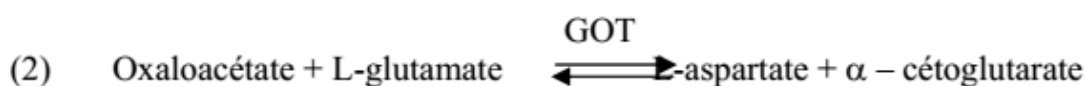
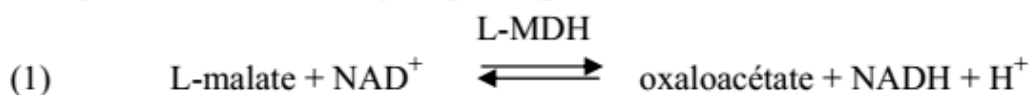
Acide L-malique

Méthode enzymatique

1. Principe de la méthode

En présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) l'acide L-malique (L-malate) est oxydé en oxaloacétate dans une réaction catalysée par la L-malate-deshydrogénase (L-MDH).

L'équilibre de la réaction est en faveur du malate. L'élimination de l'oxaloacétate du milieu réactionnel délace l'équilibre de la réaction dans le sens de la formation d'oxaloacétate. En présence de L-glutamate, l'oxaloacétate est transformé en L-aspartate, réaction catalysée par la glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT).



La formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à la longueur d'onde de 340 nm, est proportionnelle à la quantité de L-malate présente.

2. Appareillage

2.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer les mesures à 340 nm, maximum d'absorption du NADH.

À défaut, photomètre à spectre discontinu permettant d'effectuer les mesures à 334 nm ou à 365 nm.

2.2. Cuves de verre de 1 cm de trajet optique ou cuves à usage unique.

2.3. Micropipettes permettant de prélever des volumes compris entre 0,01 et 2 ml

3. Réactifs

Eau bidistillée

3.1. Tampon pH 10 (glycylglycine 0,60 mol/l, L-glutamate 0,1 mol)

Dissoudre 4,75 g de glycylglycine et 0,88 g d'acide L-glutamique dans environ 50 ml d'eau bidistillée ; ajuster le pH à 10 avec environ 4,6 ml de solution d'hydroxyde de sodium 10 M et porter à 60 ml avec de l'eau bidistillée.

La solution reste stable pendant au moins 12 semaines + 4 °C.

3.2. Solution de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD), environ 0,047 M :

dissoudre 420 mg de NAD dans 12 ml d'eau bidistillée. La solution reste stable pendant au moins 4 semaines à + 4 °C.

3.3. Suspension de glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT) à 2 mg/ml.

La suspension est stable pendant au moins un an à + 4 °C.

3.4. Solution de L-malate-deshydrogénase (L-MDH) à 5 mg/ml.

La solution est stable pendant au moins un an à + 4 °C.

Remarque : L'ensemble des réactifs nécessaires pour le dosage est disponible dans le commerce.

4. Préparation de l'échantillon

Le dosage du L-malate s'effectue généralement directement sur le vin sans décoloration préalable et sans dilution, à condition que la teneur en acide L-malique soit inférieure à 350 mg/l (mesures à 365 nm). Sinon, procéder à la dilution du vin avec de l'eau bidistillée de sorte que la concentration en L-malate se situe entre 30 et 350 mg/l (quantité de L-malate dans la prise d'essai comprise entre 3 et 35 µg).

Si la concentration en malate du vin est inférieure à 30 mg/l le volume de la prise d'essai peut être augmenté jusqu'à 1 ml. Dans ce cas le volume de l'eau à ajouter est réduit afin que les volumes totaux soient les mêmes dans les deux cuves.

5. Mode opératoire

Le spectrophotomètre étant réglé sur la longueur d'onde 340 nm, les mesures d'absorbance se font dans les cuves de 1 cm de trajet optique, l'absorbance zéro étant réglé par rapport à l'air (pas de cuve sur le trajet optique) ou par rapport à l'eau. Dans les cuves de 1 cm de trajet optique introduire :

	Témoin	Dosage
Solution 3.1	1,00 ml	1,00 ml
Solution 3.2	0,20 ml	0,20 ml
Eau bidistillée	1,00 ml	0,90 ml
Suspension 3.3	0,01 ml	0,01 ml
Echantillon	-	0,10 ml

Mélanger ; après environ 3 min., mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_1). Ajouter :

Solution 3.4	0,01 ml	0,01 ml
--------------------	---------	---------

Mélanger ; attendre la fin de la réaction (environ 5 à 10 minutes) et mesurer les absorbances des solutions témoin et dosage (A_2).

Déterminer les différences d'absorbances ($A_2 - A_1$) du témoin et du dosage.

Déduire la différence d'absorbances du témoin de la différence d'absorbances du dosage.

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

Remarque : Le temps nécessaire à l'action des enzymes peut varier d'un lot à l'autre. Il n'est donné ci-dessus qu'à titre indicatif. Il est recommandé de le déterminer pour chaque lot.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

La concentration en acide L-malique est donnée en grammes par litre (g/l) avec 1 décimale.

6.1. Mode de calcul

La concentration en grammes par litre est calculée par la formule générale :

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times \delta \times 1000} \times \Delta A$$

V = volume du test en ml (ici 2,22 ml)

v = volume de l'échantillon en millilitres (ici 0,1 ml)

P.M = masse moléculaire de la substance à doser (ici, acide L-malique = 134,09)

δ = trajet optique de la cuve en centimètres (ici 1 cm)

ε = coefficient d'absorption du NADH ; à 340 nm,
 $\varepsilon = 6,3 \text{ mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1}$

on obtient pour le L-malate :

$$C = 0,473 \times \Delta A$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Remarque :

- Mesure à 334 nm, $\varepsilon = 6,2 \text{ (mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,482 \times \Delta A$
- Mesure à 365 nm, $\varepsilon = 3,4 \text{ (mmole}^{-1} \times l \times \text{cm}^{-1})$.
 $C = 0,876 \times \Delta A$

6.2. Répétabilité (r)

$$r = 0,03 + 0,034 x_i$$

x_i = concentration en acide malique de l'échantillon en g/l.

6.3. Reproductibilité (R)

$$R = 0,05 + 0,071 x_i$$

x_i = concentration en acide malique de l'échantillon en g/l.

Annexe 8. La méthode OIV-MA-AS2-07B

Méthode OIV-MA-AS2-07B

Méthode Type IV

Caractéristiques Chromatiques
(Méthode A0 modifiée par Oeno 1/2006)

1. Définitions

On appelle caractéristiques chromatiques d'un vin sa luminosité et sa chromaticité. La luminosité correspond à la transmittance. Elle varie en raison inverse de l'intensité colorante du vin. La chromaticité correspond à la longueur d'onde dominante (qui caractérise la nuance) et à la pureté.

Conventionnellement et pour des raisons de commodité, les caractéristiques chromatiques des vins rouges et rosés sont énoncées par l'intensité colorante et la nuance, suivant un procédé adopté comme méthode usuelle.

2. Principe de la méthode

2.1. Méthode applicable aux vins rouges et rosés

Méthode spectrophotométrique selon laquelle les caractéristiques chromatiques sont exprimées conventionnellement comme ci-dessous :

- L'intensité est donnée par la somme des absorbances sous 1 cm de trajet optique pour les radiations de longueurs d'onde égales à 420, 520 et 620 nm.
- La nuance est exprimée par le rapport de l'absorbance à 420 nm à l'absorbance à 520 nm.

3. Méthode

3.1. Appareils

3.1.1. Spectrophotomètre permettant des mesures entre 300 et 700 nm.

3.1.2. Cuves de verre disponibles par paires, de trajet optique, b , égal à 0,1 - 0,2 - 0,5 et 1 cm.

3.2. Traitement préalable de l'échantillon

Si le vin est trouble, le clarifier par centrifugation. Les vins jeunes ou mousseux doivent être débarrassés de la plus grande quantité de leur dioxyde de carbone par agitation sous vide.

3.3. Mode opératoire

Le trajet optique, b , de la cuve de mesure doit être choisi de manière que l'absorbance A soit comprise entre 0,3 et 0,7.

Effectuer les mesures spectrophotométriques en utilisant comme liquide de référence l'eau distillée placée dans une cuve de même trajet optique, b , pour régler le zéro de l'échelle d'absorbances de l'appareil aux longueurs d'onde 420, 520 et 620 nm.

3.4. Calculs

Calculer les absorbances pour 1 cm de trajet optique pour les 3 longueurs d'onde en divisant par b , exprimé en cm, les absorbances relevées, soit A_{420} , A_{520} , A_{620} .

A_{420} , A_{520} et A_{620} . L'intensité est conventionnellement donnée par :
 $I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$

3.5. Expression des résultats

L'intensité est conventionnellement donnée par :

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

Elle est exprimée avec 3 décimales.

La nuance est conventionnellement donnée par :

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

Elle est donnée avec 3 décimales.

TABLEAU I
Transformation des absorbances en transmittances (T %)

Mode d'utilisation : Lire le premier chiffre décimal de la valeur de l'absorbance dans la colonne verticale 1 et le deuxième chiffre décimal sur la ligne horizontale 2. Relever le chiffre situé à l'intersection. Pour obtenir la transmittance, ce chiffre devra être divisé par 10 si l'absorbance a une valeur inférieure à 1, par 100 si elle est comprise entre 1 et 2, par 1 000 si elle est comprise entre 2 et 3.

Remarque : Le chiffre porté en haut et à droite de chaque case permet de tenir compte par interpolation du troisième chiffre décimal de la valeur de l'absorbance.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	²³ 1000	²² 977	²² 955	²¹ 933	²¹ 912	²⁰ 891	²⁰ 871	¹⁹ 851	¹⁹ 932	¹⁹ 813
1	¹⁸ 794	¹⁸ 776	¹⁷ 759	¹⁷ 741	¹⁶ 724	¹⁶ 708	¹⁶ 692	¹⁵ 676	¹⁵ 661	¹⁵ 646
2	¹⁴ 631	¹⁴ 617	¹⁴ 603	¹⁴ 589	¹³ 575	¹³ 562	¹³ 549	¹² 537	¹² 525	¹² 513
3	¹¹ 501	¹¹ 490	¹¹ 479	¹¹ 468	¹⁰ 457	⁹ 447	⁹ 436	¹⁰ 427	¹⁰ 417	⁹ 407
4	⁹ 398	⁹ 389	⁹ 380	⁸ 371	⁸ 363	⁸ 355	⁸ 347	⁸ 339	⁷ 331	⁸ 324
5	⁷ 316	⁷ 309 71	⁷ 302	⁷ 295	⁶ 288	⁷ 282	⁶ 275	⁶ 269	⁶ 263	⁶ 257
6	⁶ 251	⁵ 245	⁶ 240	⁵ 234	⁵ 229	⁵ 224	⁵ 219	⁵ 214	⁵ 209	⁵ 204
7	⁴ 199	⁵ 195	⁴ 190	⁴ 186	⁴ 182	⁴ 178	⁴ 174	⁴ 170	⁴ 166	⁴ 162
8	³ 158	⁴ 155	³ 151	⁴ 148	⁴ 144	³ 141	³ 138	³ 135	³ 132	³ 129
9	³ 126	³ 123	³ 120	² 117	³ 115	² 112	³ 110	² 107	³ 105	² 102

Exemple :

Absorbance	0,47	1,47	2,47	3,47
T %	33,9 %	3,4 %	0,3%	0 %

Les transmittances T % seront exprimées à 0,1 % près.

**Détermination des caractéristiques chromatiques
selon Cielab
(Résolution Oeno 1/2006)**

1. Introduction

La couleur du vin est l'un des éléments visuels les plus importants dont nous disposons, en ce qu'elle nous apporte une multitude d'informations de grande pertinence.

La couleur est une sensation que nous percevons visuellement par l'effet de la réfraction ou de la réflexion de la lumière sur la surface d'un objet. La couleur est lumière, elle est liée étroitement à la lumière et c'est du type de lumière (illumination ou stimulus lumineux) que dépend la perception de couleurs différentes. La lumière est très variable, tout comme la couleur lorsqu'elle est mesurée.

Le vin absorbe une partie seulement des radiations lumineuses qu'il reçoit et en réfléchit une autre partie, laquelle parvient jusqu'à l'œil de l'*observateur*, lui procurant une sensation de couleur. Par exemple, la sensation induite par un vin de teinte rouge à luminosité très foncée est due à l'absorption quasi complète par ce vin de la radiation incidente.

1.1. Objet et champ d'application

Cette méthode spectrophotométrique a pour objet de déterminer le mode de mesure et de calcul des *caractéristiques chromatiques* des vins et autres boissons dérivées, avec reproduction des sensations de couleur ressenties par un observateur réel à partir des *composants trichromatiques* X, Y, Z définis par la Commission internationale de l'Éclairage (CIE, 1976).

1.2. Principe et définitions

La couleur d'un vin peut être définie par trois attributs ou qualités spécifiques de la sensation visuelle : sa teinte, sa luminosité (ou luminance) et son chromatisme.

La *teinte*, la plus caractéristique, désigne la couleur en soi : rouge, jaune, vert ou bleu. La *luminosité* est l'attribut de la sensation visuelle selon laquelle un vin paraît plus ou moins lumineux. Le *chromatisme* ou *niveau de coloration*, pour sa part, est lié à l'intensité plus ou moins forte de sa couleur. La conjugaison de ces trois concepts permet d'identifier les multiples nuances de couleur des vins.

Les *caractéristiques chromatiques* d'un vin sont définies par les *coordonnées colorimétriques* ou de *chromacité* (Fig. 1) correspondant à la *clarté* (L^*), *composante de couleur rouge/vert* (a^*), *composante de couleur jaune/bleu* (b^*), et par les *grandeurs dérivées*, à savoir la *chroma* (C^*), le *ton* (H^*) et la *chromacité* [(a^*, b^*) ou (C^*, H^*)]. En d'autres termes, ce système de couleur ou espace CIELab se fonde sur une représentation cartésienne séquentielle ou continue sur 3 axes orthogonaux L^* , a^* et b^* (Fig. 2 et 3). La coordonnée L^* désigne la clarté ($L^* = 0$ noir et $L^* = 100$ incolore), a^* désigne la composante de couleur rouge/vert ($a^* > 0$ rouge, $a^* < 0$ vert) et b^* la composante de couleur jaune/bleu ($b^* > 0$ jaune, $b^* < 0$ bleu).

1.2.1. Clarté

Son symbole est L^* et elle se définit par la fonction mathématique suivante :

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad (\text{I})$$

Elle est directement liée à la sensation visuelle de luminosité.

1.2.2. Composante de couleur rouge/vert

Son symbole est a^* et elle se définit par la fonction mathématique suivante :

$$a^* = 500[(X/X_n) - (Y/Y_n)] \quad (\text{I})$$

1.2.3. Composante de couleur jaune/bleu

Son symbole est b^* et elle se définit par la fonction mathématique suivante :

$$b^* = 200 - [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \quad \text{(I)}$$

1.2.4. Chroma

Le symbole de la Chroma est C^* , défini par la fonction mathématique suivante :

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

1.2.5. Ton

Le symbole du ton est H^* , son unité est le degré sexagésimal ($^\circ$) et il est défini par la fonction mathématique suivante :

$$H^* = \text{tg}^{-1} (b^*/a^*)$$

1.2.6. Différence de ton entre deux vins

Le symbole est ΔH^* , défini par la fonction mathématique suivante :

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2}$$

(I) Voir explication annexe I.

1.2.7. Différence colorimétrique globale entre deux vins

Le symbole est ΔE^* , défini par les formules mathématiques suivantes :

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2}$$

1.3. Réactifs et produits

Eau distillée.

1.4. Appareillage et matériel

Équipement et appareillage courants de laboratoire, notamment :

1.4.1. Spectrophotomètre permettant d'effectuer des mesures avec une longueur d'onde de transmittance comprise entre 300 et 800 nm, avec illuminant D65 et observateur à 10°. Utiliser des appareils à résolution égale ou supérieure à 5 nm et, si possible, à balayage.

1.4.2. Matériel informatique et programme approprié permettant, en conjonction avec le spectrophotomètre, de calculer les coordonnées colorimétriques (L^* , a^* et b^*) et leurs grandeurs dérivées (C^* et H^*).

1.4.3. Récipients de verre, disponibles par paires, de trajet optique de 1, 2 et 10 mm.

1.4.4. Micropipettes permettant de prélever des volumes compris entre 0,020 et 2 ml.

1.5. Échantillonnage et préparation de l'échantillon

La prise d'essai doit respecter particulièrement tous les concepts d'homogénéité et de représentativité.

Si le vin est trouble, il doit être clarifié par centrifugation. Concernant les vins jeunes ou mousseux, la plus grande quantité possible de dioxyde de carbone doit être éliminée par agitation sous vide ou par le biais d'un bain à ultrasons.

1.6. Mode opératoire

— Sélectionner une paire de récipients pour réaliser la lecture spectrophotométrique en veillant à ne pas dépasser le plafond de mesure dans les limites de linéarité du spectrophotomètre. À titre indicatif, il est conseillé d'utiliser pour les vins blancs et rosés des récipients de 10 mm de trajet optique et d'1 mm pour les vins rouges.

- Une fois l'échantillon prélevé et préparé, mesurer sa transmittance entre 380 et 780 nm tous les 5 nm, en utilisant comme liquide de référence de l'eau distillée placée dans un récipient de même trajet optique de manière à régler la ligne de base ou le blanc. Sélectionner l'illuminant D65 et un observateur à 10°.

- Si le trajet optique du récipient de lecture est inférieur à 10 mm, il convient alors de transformer la transmittance à 10 mm avant de procéder au calcul de : L^* , a^* , b^* , C^* et H^* .

Résumé :

Mesures spectrales à des transmittances entre 780 et 380 nm
Intervalle : 5 nm
Récipients : en fonction de l'intensité du vin. 1 cm (vins blancs et rosés), 0,1 cm (vins rouges)
Illuminant D65
Observateur standard à 10°

1.7. Calculs

Le spectrophotomètre doit être utilisé en conjonction avec un programme informatique permettant de calculer facilement, au moyen des algorithmes mathématiques appropriés, les coordonnées colorimétriques (L^* , a^* et b^*) et leurs grandeurs dérivées (C^* et H^*).

En l'absence de programme informatique, les calculs seront effectués conformément à l'Annexe 1.

1.8. Expression des résultats

Les coordonnées colorimétriques du vin seront exprimées selon les recommandations énoncées au tableau suivant.

Coordonnées colorimétriques	Symbole	Unité	Intervalle	Décimales
Clarté	L^*		0-100 0 noir 100 incolore	1
Composante rouge/vert	a^*		>0 rouge <0 verte	2
Composante jaune/bleu	b^*		>0 jaune <0 bleu	2
Chroma	C^*			2
Ton	H^*	°	0-360°	2

1.9. Exemple numérique

La figure 4 recense les valeurs des coordonnées colorimétriques et présente le diagramme de chromaticité d'un vin rouge jeune pour les valeurs suivantes :

$X = 12,31$; $Y = 60,03$ et $Z = 10,24$
 $L^* = 29,2$
 $a^* = 55,08$
 $b^* = 36,10$
 $C^* = 66,00$
 $H^* = 33,26^\circ$

2. Fidélité

Les données ci-dessus ont été obtenues dans le cadre de deux essais interlaboratoires exécutés en double aveugle sur 8 échantillons de vin ayant des caractéristiques chromatiques progressives. Ces essais ont été conduits conformément aux recommandations du Protocole harmonisé pour les études collectives en vue de la validation de la méthode d'analyse.

2.1. Coordonnée colorimétrique L^* (clarté, 0-100)

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H
Année de l'essai interlaboratoires	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
Nombre de laboratoires participants	18	21	18	18	17	18	23	18
Nombre de laboratoires admis après élimination des valeurs aberrantes	14	16	16	16	14	17	21	16
Valeur moyenne (\bar{X})	96,8	98,0	91,6	86,0	77,4	67,0	34,6	17,6
Écart-type de répétabilité (s_r)	0,2	0,1	0,2	0,8	0,2	0,9	0,1	0,2
Écart-type relatif de répétabilité (RSD_r) (%)	0,2	0,1	0,3	1,0	0,3	1,3	0,2	1,2
Limite de répétabilité (r) ($2,8 \times s_r$)	0,5	0,2	0,7	2,2	0,7	2,5	0,2	0,6
Écart-type de reproductibilité (s_R)	0,6	0,1	1,2	2,0	0,8	4,1	1,0	1,0
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD_R) (%)	0,6	0,1	1,3	2,3	1,0	6,1	2,9	5,6
Limite de reproductibilité (R) ($2,8 \times s_R$)	1,7	0,4	3,3	5,5	2,2	11,5	2,8	2,8

2.2. Coordonnée colorimétrique a* (vert/rouge)

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H
Année de l'essai interlaboratoires	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
Nombre de laboratoires participants	18	21	18	18	17	18	23	18
Nombre de laboratoires admis après élimination des valeurs aberrantes	15	15	14	15	13	16	23	17
Valeur moyenne (\bar{x})	-0,26	-0,86	2,99	11,11	20,51	29,29	52,13	47,55
Écart-type de répétabilité (s_r)	0,17	0,01	0,04	0,22	0,25	0,26	0,10	0,53
Écart-type relatif de répétabilité (RSD _r) (%)	66,3	1,4	1,3	2,0	1,2	0,9	0,2	1,1
Limite de répétabilité (r) (2,8 x s_r)	0,49	0,03	0,11	0,61	0,71	0,72	0,29	1,49
Écart-type de reproductibilité (s_R)	0,30	0,06	0,28	0,52	0,45	0,98	0,88	1,20
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD _R) (%)	116,0	7,5	9,4	4,7	2,2	3,4	1,7	2,5
Limite de reproductibilité (R) (2,8 x s_R)	0,85	0,18	0,79	1,45	1,27	2,75	2,47	3,37

2.3. Coordonnée colorimétrique b* (bleu/jaune)

Identification de l'échantillon	A	B	C	D	E	F	G	H
Année de l'essai interlaboratoires	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
Nombre de laboratoires participants	17	21	17	17	17	18	23	18
Nombre de laboratoires admis après élimination des valeurs aberrantes	15	16	13	14	16	18	23	15
Valeur moyenne (\bar{x})	10,95	9,04	17,75	17,10	19,68	26,51	45,82	30,07
Écart-type de répétabilité (s_r)	0,25	0,03	0,08	1,08	0,76	0,65	0,15	0,36
Écart-type relatif de répétabilité (RSD _r) (%)	2,3	0,4	0,4	6,3	3,8	2,5	0,3	1,2
Limite de répétabilité (r) (2,8 x s_r)	0,71	0,09	0,21	3,02	2,12	1,83	0,42	1,01
Écart-type de reproductibilité (s_R)	0,79	0,19	0,53	1,18	3,34	2,40	1,44	1,56
Écart-type relatif de reproductibilité (RSD _R) (%)	7,2	2,1	3,0	6,9	16,9	9,1	3,1	5,2
Limite de reproductibilité (R) (2,8 x s_R)	2,22	0,53	1,47	3,31	9,34	6,72	4,03	4,38

ANNEXE 1

Formellement, les composantes trichromatiques X, Y, Z d'un stimulus de couleur résultent de l'intégration, sur tout le spectre, des fonctions obtenues en multipliant la courbe spectrale relative du stimulus de couleur par les fonctions colorimétriques de l'observateur de référence. Il s'agit toujours des fonctions obtenues expérimentalement. Il n'est donc pas possible de calculer les composantes trichromatiques directement par intégration. En conséquence, on doit déterminer les valeurs approchées en remplaçant ces intégrales par des sommations des intervalles des longueurs d'onde.

$$X = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{X}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$T_{(\lambda)}$ est la mesure de la transmittance du vin mesurée à la longueur d'onde λ exprimée à 1 cm de trajet optique.

$$Y = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$\Delta_{(\lambda)}$ est l'intervalle entre la valeur de λ auxquelles on mesure $T_{(\lambda)}$

$$Z = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Z}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$S_{(\lambda)}$: coefficients fonction de λ et de l'illuminant. (Tableau 1).

$$K = 100 / \sum_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$$

$\bar{X}_{10(\lambda)}$; $\bar{Y}_{10(\lambda)}$; $\bar{Z}_{10(\lambda)}$: coefficients fonction de λ et de l'observateur. (Tableau 1)

Les formules pour les calculs font référence aux valeurs X_n , Y_n , et Z_n , qui correspondent au diffuseur parfait pour les conditions d'illumination et de l'observateur de référence donnés. Ici, l'illuminant est D65 et l'observateur 10°.

$$X_n = 94,825; \quad Y_n = 100; \quad Z_n = 107,381$$

Cet espace approximativement uniforme est dérivé de l'espace CIEYxy, où sont définies les composantes trichromatiques X, Y, Z.

Les calculs des coordonnées L^* , a^* y b^* son effectués a partir des valeurs des composants Trichromatiques X, Y, Z, en utilisant les formules suivantes.

$$\begin{aligned}
 L^* &= 116 (Y / Y_n)^{1/3} - 16 && \text{para } Y / Y_n > 0,008856 \\
 L^* &= 903,3 (Y / Y_n) && \text{para } Y / Y_n < \acute{o} = 0,008856 \\
 a^* &= 500 [f(X / X_n) - f(Y / Y_n)] \\
 b^* &= 200 [f(Y / Y_n) - f(Z / Z_n)] \\
 f(X / X_n) &= (X / X_n)^{1/3} && \text{para } (X / X_n) > 0,008856 \\
 f(X / X_n) &= 7,787 (X / X_n) + 16 / 166 && \text{para } (X / X_n) < \acute{o} = 0,008856 \\
 f(Y / Y_n) &= (Y / Y_n)^{1/3} && \text{para } (Y / Y_n) > 0,008856 \\
 f(Y / Y_n) &= 7,787 (Y / Y_n) + 16 / 116 && \text{para } (Y / Y_n) < \acute{o} = 0,008856 \\
 f(Z / Z_n) &= (Z / Z_n)^{1/3} && \text{para } (Z / Z_n) > 0,008856 \\
 f(Z / Z_n) &= 7,787 (Z / Z_n) + 16 / 116 && \text{para } (Z / Z_n) < \acute{o} = 0,008856
 \end{aligned}$$

L'écart colorimétrique global entre deux couleurs est donné par la différence de couleur CIELAB

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Dans l'espace CIELAB il est possible d'exprimer des écarts de couleur non seulement globaux, mais aussi suivant un ou plusieurs des paramètres L^* , a^* et b^* . Cela permet de définir de nouveaux paramètres et les relier avec les attributs de la sensation visuelle.

La clarté, reliée à la luminosité, est directement représenté par la valeur de L^* .

$$\text{La chroma: } C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \text{ définit la chromie.}$$

L'angle de teinte: $H^* = \text{tg}^{-1} (b^*/a^*)$ (exprimée en degrés). Est relié à la teinte.

$$\text{La différence de teinte : } \Delta H^* = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{1/2}$$

Pour deux couleurs quelconques, ΔC^* représente leur différence de chromaticité; ΔL^* , leur différence de clarté, et ΔE^* , leur écart de couleur global. Nous avons donc:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2]^{1/2}$$

Tableau 1. Coefficients à appliquer dans les formules

Long. d' (λ) nm.	$S_{(\lambda)}$	$\bar{X}_{10(\lambda)}$	$\bar{Y}_{10(\lambda)}$	$\bar{Z}_{10(\lambda)}$
380	50,0	0,0002	0,0000	0,0007
385	52,3	0,0007	0,0001	0,0029
390	54,6	0,0024	0,0003	0,0105
395	68,7	0,0072	0,0008	0,0323
400	82,8	0,0191	0,0020	0,0860
405	87,1	0,0434	0,0045	0,1971
410	91,5	0,0847	0,0088	0,3894
415	92,5	0,1406	0,0145	0,6568
420	93,4	0,2045	0,0214	0,9725
425	90,1	0,2647	0,0295	1,2825
430	86,7	0,3147	0,0387	1,5535
435	95,8	0,3577	0,0496	1,7985
440	104,9	0,3837	0,0621	1,9673
445	110,9	0,3867	0,0747	2,0273
450	117,0	0,3707	0,0895	1,9948
455	117,4	0,3430	0,1063	1,9007
460	117,8	0,3023	0,1282	1,7454
465	116,3	0,2541	0,1528	1,5549
470	114,9	0,1956	0,1852	1,3176
475	115,4	0,1323	0,2199	1,0302
480	115,9	0,0805	0,2536	0,7721
485	112,4	0,0411	0,2977	0,5701
490	108,8	0,0162	0,3391	0,4153
495	109,1	0,0051	0,3954	0,3024
500	109,4	0,0038	0,4608	0,2185
505	108,6	0,0154	0,5314	0,1592
510	107,8	0,0375	0,6067	0,1120
515	106,3	0,0714	0,6857	0,0822
520	104,8	0,1177	0,7618	0,0607
525	106,2	0,1730	0,8233	0,0431
530	107,7	0,2365	0,8752	0,0305
535	106,0	0,3042	0,9238	0,0206
540	104,4	0,3768	0,9620	0,0137
545	104,2	0,4516	0,9822	0,0079
550	104,0	0,5298	0,9918	0,0040
555	102,0	0,6161	0,9991	0,0011
560	100,0	0,7052	0,9973	0,0000
565	98,2	0,7938	0,9824	0,0000

Annexes

570	96,3	0,8787	0,9556	0,0000
575	96,1	0,9512	0,9152	0,0000
580	95,8	1,0142	0,8689	0,0000
585	92,2	1,0743	0,8256	0,0000
590	88,7	1,1185	0,7774	0,0000
595	89,3	1,1343	0,7204	0,0000
600	90,0	1,1240	0,6583	0,0000
605	89,8	1,0891	0,5939	0,0000
610	89,6	1,0305	0,5280	0,0000
615	88,6	0,9507	0,4618	0,0000
620	87,7	0,8563	0,3981	0,0000
625	85,5	0,7549	0,3396	0,0000
630	83,3	0,6475	0,2835	0,0000
635	83,5	0,5351	0,2283	0,0000
640	83,7	0,4316	0,1798	0,0000
645	81,9	0,3437	0,1402	0,0000
650	80,0	0,2683	0,1076	0,0000
655	80,1	0,2043	0,0812	0,0000
660	80,2	0,1526	0,0603	0,0000
665	81,2	0,1122	0,0441	0,0000
670	82,3	0,0813	0,0318	0,0000
675	80,3	0,0579	0,0226	0,0000
680	78,3	0,0409	0,0159	0,0000
685	74,0	0,0286	0,0111	0,0000
690	69,7	0,0199	0,0077	0,0000
695	70,7	0,0138	0,0054	0,0000
700	71,6	0,0096	0,0037	0,0000
705	73,0	0,0066	0,0026	0,0000
710	74,3	0,0046	0,0018	0,0000
715	68,0	0,0031	0,0012	0,0000
720	61,6	0,0022	0,0008	0,0000
725	65,7	0,0015	0,0006	0,0000
730	69,9	0,0010	0,0004	0,0000
735	72,5	0,0007	0,0003	0,0000
740	75,1	0,0005	0,0002	0,0000
745	69,3	0,0004	0,0001	0,0000
750	63,6	0,0003	0,0001	0,0000
755	55,0	0,0002	0,0001	0,0000
760	46,4	0,0001	0,0000	0,0000
765	56,6	0,0001	0,0000	0,0000
770	66,8	0,0001	0,0000	0,0000
775	65,1	0,0000	0,0000	0,0000
780	63,4	0,0000	0,0000	0,0000

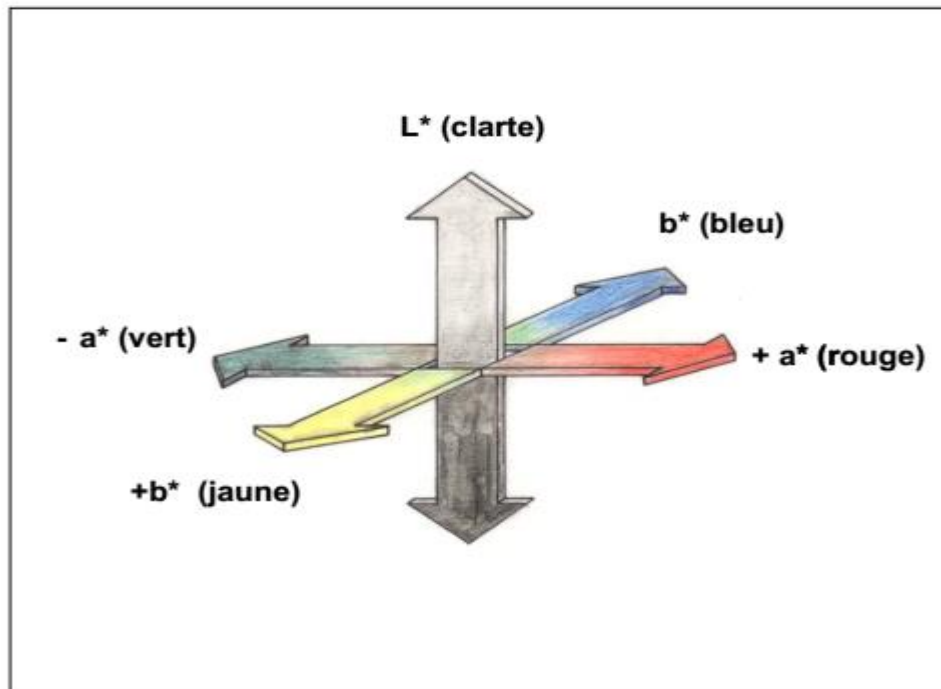


Figure 1 : Diagramme des coordonnées colorimétriques selon la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE, 1976)

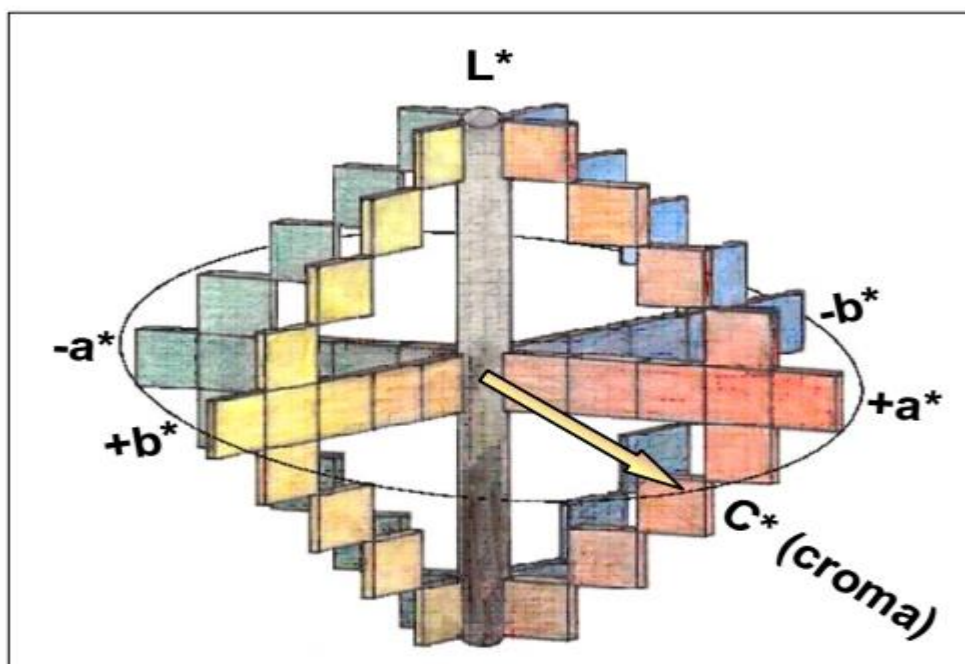


Figure 2. Espace CIELab de couleur à partir d'une représentation cartésienne séquentielle ou continue des 3 axes orthogonaux L, a et b.

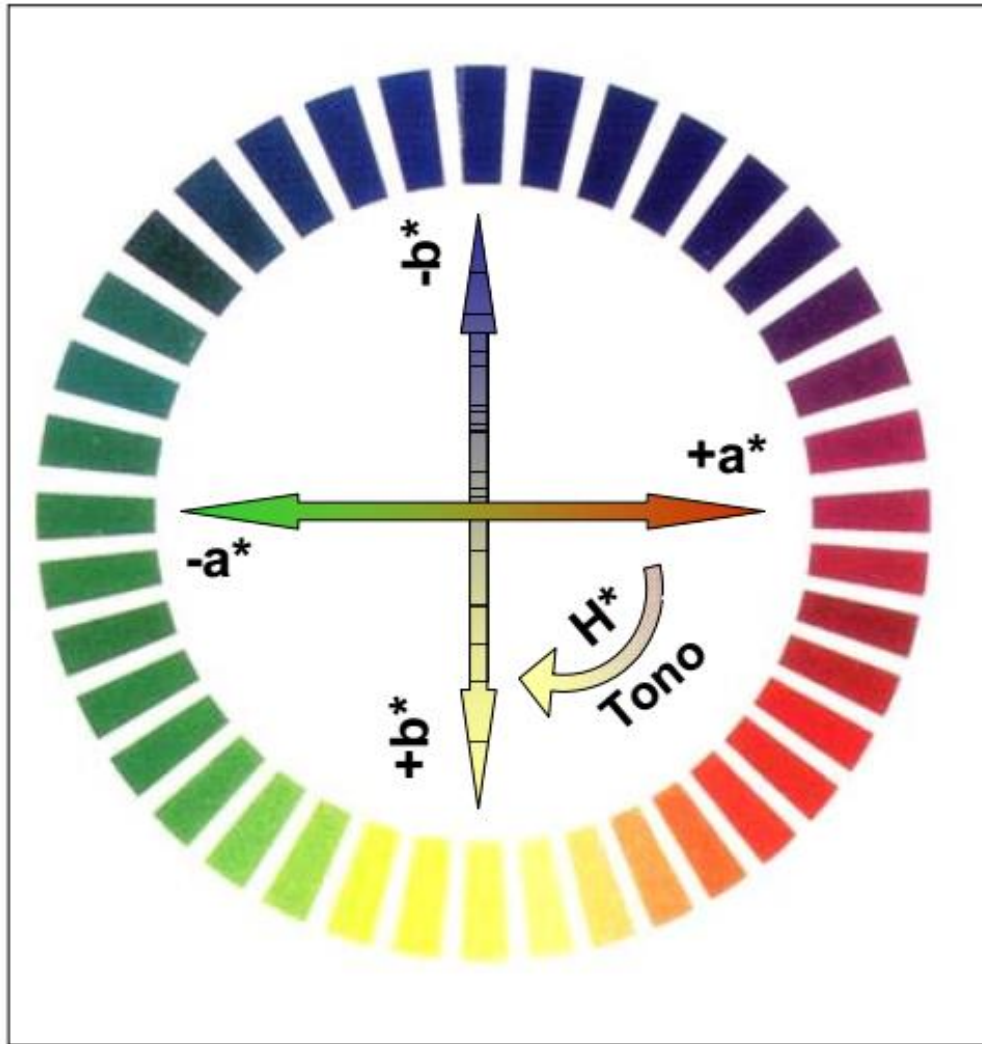


Figure 3. Diagramme séquentiel et/ou continu des coordonnées colorimétriques a et b et de magnitude dérivée comme le ton (H).

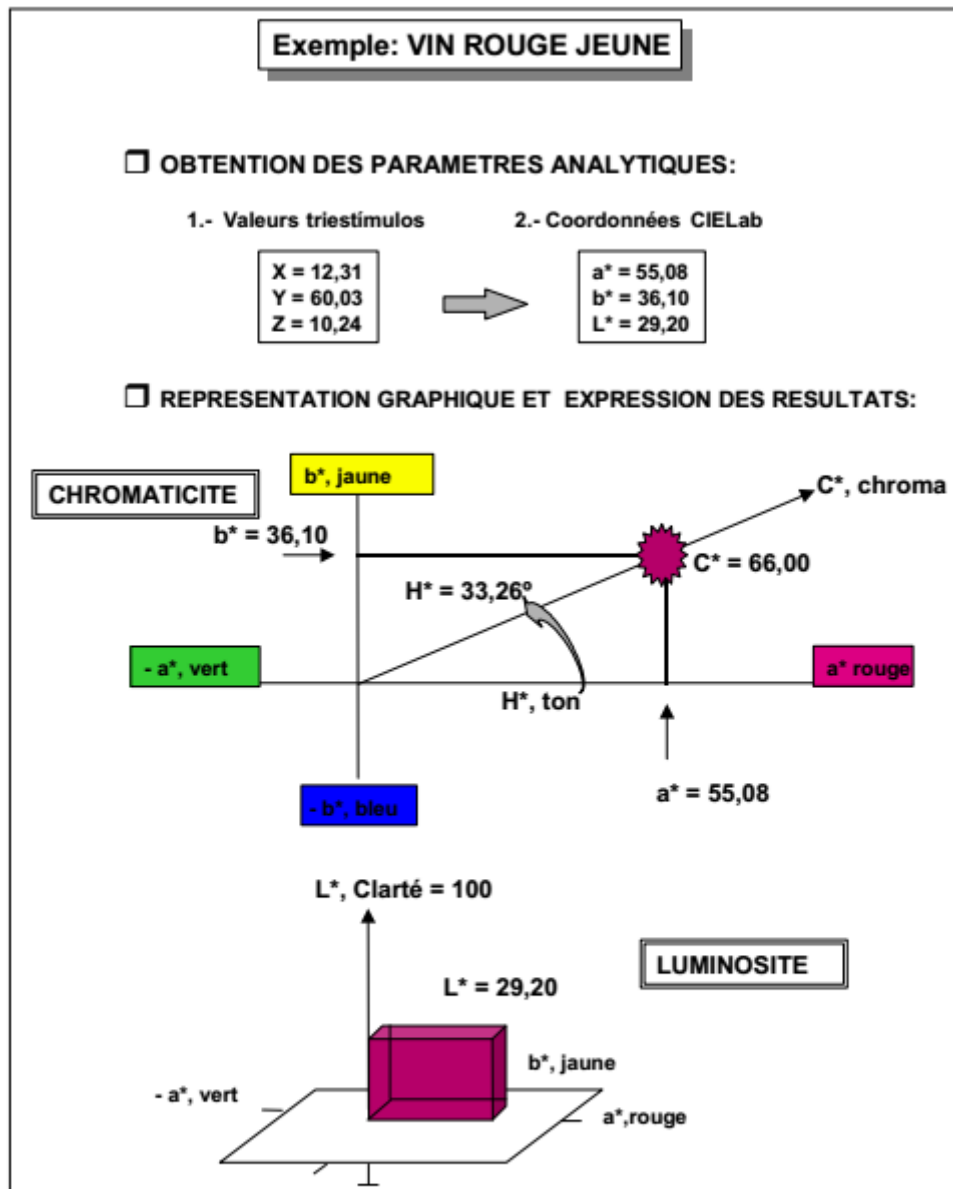


Figure 4. Représentation de la couleur d'un vin rouge jeune, utilisé comme exemple dans le chapitre 1.8, par un diagramme tridimensionnel de l'espace CIELab.

RÉSUMÉ

Le fractionnement au pressurage, étape clé de la méthode champenoise, et le type de pressurage, conditionnent de façon significative la composition biochimique du moût et du vin. Le pressurage est fractionné en séparant les premiers moûts extraits, qui constituent la "cuvée", et qui proviennent de la pulpe, partie la plus riche en sucres et en acides (tartrique et malique), des volumes suivants, appelés "tailles", qui sont aussi riches en sucre, en sels minéraux (potassium notamment) et en matières colorantes mais moins acides. Les moûts ont des caractéristiques analytiques bien spécifiques. L'évolution de la composition des moûts au cours du pressurage et la mesure des principaux paramètres analytiques permettant de juger de la qualité de l'extraction ont fait l'objet de quelques études (Valade et Blanck, 1989; Blouin, 1998) sur la base d'un fractionnement volumétrique répondant à un cahier des charges champenois. Toutefois, aucune étude portant sur un large nombre de paramètres, dont les propriétés moussantes, n'avait été entreprise avant ce travail de thèse.

Une contamination du raisin par le champignon pathogène *Botrytis cinerea* (pourriture grise) et l'effet de la maturité des raisins, autres paramètres clés dans l'élaboration du Champagne, ont un impact sur la qualité et la composition des moûts et des vins de base et notamment sur les compositions protéique, polysaccharidique et oligosaccharidique. Les essais ont été réalisés avec 2 pressoirs différents : un pressoir pneumatique industriel (capacité 8000 kg) et un pressoir de laboratoire (capacité 6 kg). Ce travail a été réalisé sur deux cépages : Pinot meunier (millésimes 2013 et 2015) et Chardonnay (millésimes 2014 et 2015). Les analyses suivantes ont été réalisées sur les moûts et vins de base : (i) paramètres œnologiques classiques des moûts et des vins, (ii) isolement et analyse des polysaccharides et oligosaccharides solubles des vins de base, (iii) quantification et identification des protéines solubles des vins de base, (iv) mesure de l'activité protéasique des vins de base (impact de *Botrytis cinerea*), (v) comparaison de la composition des moûts et des vins issus de raisins sains de deux millésimes : 2013 (pressoir industriel) et 2014 (pressoir de laboratoire).

La connaissance de l'état sanitaire et l'optimisation du choix de la date des vendanges en fonction de la maturité sont des outils à la disposition de l'œnologue qui lui permettent d'améliorer la qualité des moûts produits au cours du pressurage et par conséquent celle des vins qui en sont issus. A la suite de cette approche, il serait intéressant de voir dans quelles conditions ces paramètres pourraient être reproduits à grande échelle pour une application industrielle.

Mots-clés : raisin, maturité, fractionnement au pressurage, *Botrytis cinerea*, polysaccharide/oligosaccharide, protéine, activité protéasique, vins de Champagne.